日本水産学会誌

第二十三巻　第四号

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries

Vol. 23, No. 4, 1957

目　　次

昭和三十二年
日　本　水　産　学　会
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO

CONTENTS

*In Japanese with synopsis in English.

All communications and publications should be addressed to :
Japanese Society of Scientific Fisheries, c/o Tokyo University of Fisheries, Shiba kaigandori 6-chome, Tokyo, Japan.

日本水産学会投稿規定

1. 報文の投稿者は本会員個人に限る。但し会員外の共同研究者を含むことは差支えない。
2. 報文は投稿者の原著で他の刊行物に未発表のものに限る。
3. 報文は総て本会に送付し，本会に到着した日を以つて，受付月日とし，受付けた原稿は総て編集長の指定する2名の編集理事が回覧し，掲載可と認めたものはそのまゝ受理する。この場合の受理月日は受付月日とする。編集理事が其のまゝ掲載することに疑義をいだいた場合は編集長にその旨報告する。この場合編集長は編集会議を招集，審議し，受理し得ないと認めた場合はその理由を附し，原著者に返却し，訂正を求める。この場合の受理月日は，学会が訂正原稿を受理した月日とする。受理した論文は，その受理月日の順に掲載する。但し，その報文又は報文抄録が印刷費著者負担の場合は，会誌を増頁して掲載する。抄録を希望する場合は本論文をそえて提出すること。
4. 原稿1篇の長さは原則として刷上り4頁（表題. 200語の英文抄録を除き，図表の占める紙面を含め約 7000 字相当）とする。原稿一篇の学会負担の基準印刷費（7.200円）を超過した場合は著者が負担する。
5. 会員が会費又は著者として負担すべき印刷費の支払いを怠るときは，支払いのあるまでその会員の報文の受理又は掲載を見合せることがある。
6. 邦文報告には原則として 200 語以内の英文抄録（題名と著者名とを附記，名前は省略せぬこと，）を添える。
7. 図表には英文の説明をつける。邦文を併用してもよい。
8. 投稿の細目については別に定める注意書きに従う。

投稿に関する注意

1. 原稿を投稿するときには，本会所定の投稿カード（請求により配付する）に必要事項を記入し，之を原稿に添え本会に提出する。
2. 初校は原則として，著者が校正する（校正は迅速に行う事）。尚文章又は図，表の変更や追加は禁ずる。再校以後は編集部で校正する。
3. 英文抄録，図及び表の表題，説明等の英訳を希望される向はその原案を添えて投稿されたい。但し実費を申し受ける。
4. 別刷りの料金（X円）は次の式によつて算出される通りとする。X=(1+P)（N—50）円 P：頁数，N：別刷数（50 部を単位とする）従つて 50 部までは頁数に関らず無料である。特に表紙をつけることを希望される場合は，著者負担によつてこれをつける。(50 部当り 300 円)
5. 投稿後掲載までの間に著者の連絡先が変つたときには必ず通知されたい。

原稿の書き方

原稿は会誌体裁の統一，誤りの防止，編集印刷の便宜上次の諸規定を守られたい。既出報文との調和其の他のために例外を望まれる著者はその都度明記されたい。

1. **邦文原稿**は本会所定の原稿用紙にペンで横書きにし，記述は簡単明瞭にし新かなづかいを用いて難かしい漢字はさける。英文抄録は本文とは別葉にする。
2. **欧文原稿**は厚手の上質紙に2段送りのタイプで打つ。欧文本文以外の欧文個所はペン書きでもよいが必ず活字体を用いる。
3. **字体の指定**は右の如く赤で入れる。

abcd イタリ	abcd ゴ，ゴチ	Abcd 大	ABCD S.C.		
Italic	**Gothic**	CAPITAL	CAP. & SMALL CAP.	うわつき（かたつき）	したつき

4. **表題** 主題・副題は別行に書き各々ピリオド（.）をつけない。第○報の場合はローマ数字（I，II）にして（——）でつなぎ数字の後に（.）をつける。

英文表題では第一語の他，名詞，副詞，形容詞，〔動詞は慣用に従う〕の頭文字は大文字にする。

5. **著者名** 邦文では連名の時は（・）で連ねる。ローマ字では名の頭を Capital 後は Small，姓の頭を Capital 後は Small Capital にする。連名の時は（,）で連ね最後の名の前を（and）で連ねる。（&）は用いない。末尾に（.）はつけない。

6. **所属** 著者名の下に（ ）で囲む。本文が邦文の時は英文の所属は入れない。但し著者が希望すれば脚註で入れてもよい。本文が英文の時は字体を *Italic* にする。

7. **図表** 表題，説明，内容とも英文で書く。必要ならば邦文併用もよい。番号は（Fig. 1. Table 1.）とする。番号，表題，説明は図ではその下に，表ではその上に入れる。表の細かい説明は下でもよい。邦文併用の時は邦文の番号（第1図，第1表）は省く。図表は必ず本文と別葉にし，本文中に挿入個所を赤で指定する。又本文中に引用する時は（Fig. 1，Table 1)を用いる。

8. **附図** 附図は1頁大の図版で（Plate）とし，なるべく篇末に入れる。原図が写真であつても本文中に組込む時は Fig. にする。附図の番号はローマ数字（I，II）を用いる。

9. **生物名** 邦文ではカタカナの和名の次に，学名を *Italic*（命名者名は Roman で頭文字を Capital，後を Small Cap.）で入れ，英文では俗名の次に学名を邦文と同様に入れる。〔その間は（,）で切る〕これを原則とするが論文により必要がなければ一部又は全部の学名，俗名を略してもよい。学名は（ ）で囲まない事。

10. **化学名** 邦文中の外来語の化学名は一般的なものはカタカナを用い，英字を用いねばならない時は Small で入れる。

11. **人名** まぎれない時は姓のみを記し名と敬称とを省いてもよい。欧名でも姓のみで頭文字は後は Capital，後は Small capital で書く。

12. **単位及び記号** 単位を表わす文字は英文中では（C.，cc.，m*l*.，kg.，m.）の如く（.）をつける。但し（Ω，μ，γ，N，M，pH，及び方位の N，S，E，W）には（.）をつけない。邦文中ではこれらの（.）はすべて省く。量を代表する記号は（長さ l，高さ h）の如く *Italic* にする。

13. **邦文本文中の外国語**（横文字の場合）は人名，地名，ドイツ語の名詞等を除き Small で入れる。同一邦文中で同一物名の和洋語の混用はさける。

14. **文献** 本文中の関連個所にうわつきで一貫番号をつけ一括して末尾に集める。番号はアラビア数字（1,2,3）を用い片カッコ（1)，パーレン）で囲み各行の末尾にピリオド（.）をつける。著者名は姓と名とを書き著者名の後はコロン（:）で切る。雑誌名の略し方は慣用法に従う。日本水産学会誌のことは本誌とする。英文雑誌名は *Italic* で書く。雑誌の巻番号は **Gothic** にする。西歴年号は必ず入れる。文献の見出しは（文献，References）とする。同一著者名，同一雑誌名を連記する時は（——）で略してもよい。

文献の書き方について著者の都合で上の指定によらない時は特にその事を付記しておく事。

15. **脚註** 脚註は数字でない記号（*，**）を用い関係頁の下段に入れ巻末に集めない。

日本近海におけるプランクトン沈澱量の分布—I.

丸 茂 隆 三
(気象庁海洋気象部海洋課)

On the Distribution of Plankton Settling Volumes in the Neighbouring Seas of Japan—I.

Ryuzo MARUMO

In the present paper, the plankton settling volume is treated for sea areas of the Pacific Ocean side of Japan in the four seasons of 1954. Plankton samples used were collected by 0—100 m. vertical haul with O-nets, which are 36 cm. in mouth diameter, 25 cm. in side length of cone head and 100 cm. in side length of filtering part of GG 54 bolting silk with 0.33 mm. opening.

In areas east of Japan, the plankton settling volume is generally larger in the Oyashio region and the mixing region of the Kuroshio, Oyashio and coastal waters, north of the Kuroshio main current, than in the Kuroshio region, being 1—2 cc. per cubic meter in most samples. In May-July, the volume increases to more than 2 cc. in the former regions, and especially, to over 10 cc. in the Oyashio water near Hokkaido.

The settling volume of the Kuroshio water does not show any distinct difference between areas east and south of Japan, both being about 0.5—1.0 cc., and also it does not show any obvious seasonal variation. In warm water masses north of the Kuroshio main current, originated from the Kuroshio east of Japan, the settling volume is almost the same as or sometimes less than that in the Kuroshio water. In areas south of Japan, it is larger in the coastal region of the Kuroshio main current than in the offshore region.

緒　言

1954 年以降凌風丸（気象庁，本州東方海域），夕汐丸（函館海洋気象台，三陸沖海域）及び春風丸（神戸海洋気象台，本州南方海域）は，日本近海の海洋観測に際し，多くのネットプランクトン試料を得た。本報ではこれらに基いて 1954 年四季のプランクトン沈澱量分布について述べる。プランクトンの量的表現として沈澱量が最良のものでないという不満を一応おくとすれば，本報のように広い海域を定期的に観測して得られた結果はかなり貴重なものと思われる。

採集には気象官署で普通に使つている O ネット（口径 36 cm，頭錐部側長 25 cm，濾過部側長 100 cm）[1] を用いた。たゞ 1954 年 2—3 月及び 5—6 月の夕汐丸だけは C ネット（口径 51 cm，濾過部側長 190 cm）[2] を使用し，その観測点は図中矢印で示した。これらは動物プランクトンを対象としたネットであり，その濾過部には篩絹 GG 54（網目の大きさ約 0.33 mm）が張つてあるので，植物プランクトンは普通の場合概ね網目から脱落する。採集に際しては，ワイヤーをなるべく鉛直に 100 m のばし，これを曳き上げたが，荒天の場合や流れの速い黒潮流中などでは，100 m より浅い層を曳いたり，100 m より長い距離を曳いたりしている場合もあるが，濾水計による補正は施してない。沈澱量（cc）は中性フォルマリンで固定した試料について 24 時間放置後読み取り，1 m^3 中の値に換算し，図中の黒丸の直径がこれの平方根に比例するようにして示した。また分布図に 100 m 層の等温線を入れた理由は，これによつて 100 m 浅層の水塊分布の模様が，大局的につかめると考えたからである。なおここで用いたプランクトン試料の詳細な定量結果は報告ずみである[2]。

種々有益な助言をよせられた鬼頭正隆技官（気象庁）ならびに未発表の資料を提供された川原田裕技官（函館海洋気象台）に深謝する。

1957 年 5 月 1 日受理

1954 年 2—3 月の分布 (Fig. 1)

親潮域では，40°N，144°E 附近は 0.4—0.5 cc の試料がかたまつているが，その西の津軽暖流水とこれの接触域及び北海道東沖では，2—4 cc でかなり高密である。関東東方の黒潮水中では 0.5—1.5 cc である。とくに注意をひくのは，金華山東沖の広大な黒潮暖水塊が著しく低密（0.5 cc 以下）なことである。常識的には実際の分布とは逆に，この時計まわりの渦は，沿岸水や親潮水と接して，少くとも南の純粋な黒潮水よりもプランクトンを多量に含んでいる方が理解され易い。この現実の分布に対してはつぎのような解釈が可能であろう。この暖水塊の中では，珪藻プランクトンも極めて乏しいこと[3] と考え合わせると，ここでは一種の溜り水の状態が形成され，植物プランクトンによる栄養塩の消費，さらに動物プランクトンによる植物の捕喰が，一方的に進行するだけで，再びプランクトンの増殖を促すような新しい水の注入がないものと思われる。

1954 年 5—6 月の分布 (Fig. 1)

5—6 月黒潮主流以北では沈澱量が爆発的に増加し，とくに北海道南東沖合の親潮基部で極めて著しい（しかも図中矢印で示した C ネット試料は，ネットの採集能力から考えて O ネットより過小の採集量を示すものと思われる)。10 cc 以上の 9 点（×印）中，7 点は 10—15 cc であるが，他の 2 点は 17 cc 及び 35 cc である。これら高密点の大部分は，その沈澱量の半量以上が珪藻（*Chaetoceros compressus*, *C. radicans*, *C. debilis* などの小型 *Chaetoceros* 属）によつて占められている。このように沈澱量の主部が珪藻によつて占められている試料は，1955 年及び 1956 年 5—6 月の観測では極めて少い。またこの季節は採水採集により得られた珪藻細胞数も他の季節に較べ桁違いに大きい[3]。主流以北の潮境（等温線の密な所）は，親潮水についで高密である。

主流以南の黒潮水は 2—3 月と大差なく，0.6—1.5 cc である。主流から北に派出した 38°N，133.5°E 附近の暖水塊中では，10 cc 以上の 1 点を除けば，南の黒潮水と大差ない程度に低密である。この時期の潮岬からその南方 29°N までの間の 7 本の試料は，0.2—0.8 cc で極めて低密である。

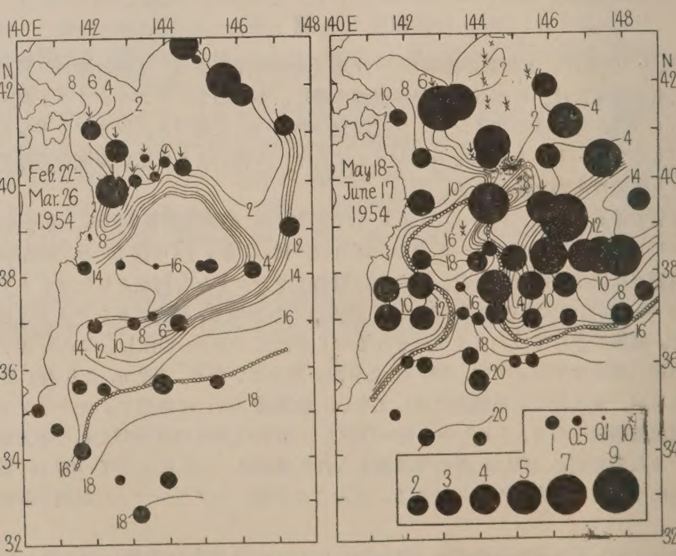


Fig. 1. Plankton settling volume (cc./m^3.) in the upper 100-m. layer and water temperature (°C.) at 100-m. depth in February-March and May-June, 1954. Chained line shows the location of the Kuroshio main current and for arrowed stations C-nets were used.



Fig. 2. Plankton settling volume (cc./m³.) in the upper 100-m. layer and water temperature (°C.) at 100-m. depth in August-September and October-December, 1954. Chained line shows the location of the Kuroshio main current.

1954 年 8—9 月 の 分 布 (Fig. 2)

三陸東方海域は成層が著しく，表面と 100 m 層との水温差はかなり大きい（例えば 0 m 18°C, 50 m 6 °C 100 m 3°C)。従つてこのような場合には，鉛直採集試料中のプランクトン相は単一な水系に属するものではなく，その沈澱量の意味するもの極めて複雑である。今期も黒潮主流以北は，以南の純粋な黒潮水より明らかに高密で，概ね 1—2 cc を示すが，5—6 月に較べれば激減している。北海道南東沖の親潮水中でもとくに高密な傾向を示さないが，たゞ 40°N, 147°E 附近を南下するもう一つの親潮分枝中の 2 点では 4 及び 10 cc である。

主流以南の黒潮水中では，0.4—1.0 cc で 5—6 月よりやゝ減少する程度で大差は認められない。また 38°N, 146°E 附近の黒潮暖水塊も，主流以南の水と大体同じくらいであるが，この傾向は採水採集による珪藻分布にも現われている。

本州南方の黒潮海域は 0.4—1.0 cc で本州東方の黒潮水と殆ど変らない。また四国及び潮岬沿岸部は1.0—1.3 cc でこの海域中で最も高密であるが，これは沿岸水の影響を示すものであろう。遠州灘冷水塊周辺（中央部は資料がない）でとくに沈澱量が大きくなるという傾向は認められない。

1954 年 10—12 月 の 分 布 (Fig. 2)

黒潮主流以北の海域は 8—9 月と大差なく，大体 1—2 cc であるが，北海道南方の親潮水中では 0.7cc 以下でとくに小さい。主流以南の黒潮水中でも 8—9 月と殆ど変らず，0.5—1.0 cc である。また 本州南方

の黒潮水も同様で，0.4—1.0 cc であるが，その主流以北の沿岸部では，この海区としては比較的高い 1 cc 前後の値を示す。

要　　約

1954 年日本近海のプランクトン沈澱量の分布はつぎのような特徴をもつ。

本州東方の黒潮主流以北の親潮水及び混合水（黒潮，親潮及び沿岸水による）の中では，一般に黒潮水より高密で，1—2 cc の試料が多い。この海域は 5—6 月に極めて高密で，大部分 2 cc 以上であり，とくに北海道近くの親潮水中では 10 cc 以上の顕著な増殖を示す。

黒潮水の沈澱量においては，本州の東方海及び南方海の間に特徴ある差違は認められず，大体0.5—1.0 cc を中心とした値を示し，また沈澱量の季節変化もあまり明瞭ではない（資料不足も原因していると思われる）。本州東方海で黒潮主流の北部に派生した暖水塊は，南の純粋な黒潮水と同程度あるいはそれ以下の低密さを示す（この傾向は採水採集による珪藻細胞数の分布に一致する）。本州南方の主流以北の沿岸部は，一般に沖合部より高密である。

文　　献

1) 中央気象台：海洋観測指針，182—184，(1955).

2) Central Meteorological Observatory : Resul. Meteorol. a. Oceanogr. Observ., **14**, 55—90 (1955), **15**, 59—134 (1955).

3) 中央気象台海洋課：海洋報告，**4**（1），19—24 (1955).

日本近海におけるプランクトン沈澱量の分布——II.

丸 茂 隆 三
（気象庁海洋気象部海洋課）

On the Distribution of Plankton Settling Volumes in the Neighbouring Seas of Japan——II.

Ryuzo MARUMO

In the same way as in the survey made in 1954, of which result was already reported by the author as the first paper of the work, net-plankton samples were collected in the neighbouring seas of Japan in 1955 also, and the settling volume was measured. The result is almost similar to that in 1954.

In seas east of Japan, generally, the settling volume is larger in the Oyashio region and the mixed-water region north of the Kuroshio main current than in the Kuroshio region. It is remarkably varied seasonaly in the Oyashio. Namely, it increases to about 10 cc. per cubic meter in May-June and decreases to only 0.3—0.5 cc. in February-March, while it is 0.5—1.0 cc. in October-November, almost equal to that of the Kuroshio water. A tendency is found that contacting regions of the Oyashio with the Kuroshio or coastal waters are rich in plankton.

The plankton settling volumes of the Kuroshio water do not show any distinct difference between areas east and south of Japan, both being about 0.5—1.0 cc. In areas south of Japan, it increases in the coastal region north of the Kuroshio main current and often in the cold water region around 33°30′ N, 137° 30′E. In areas east of Japan, warm water masses originated from the Kuroshio water maintain the same volume of plankton as that in the Kuroshio. The seasonal variation is not very obvious, whereas the plankton seems to become abundant to some extent in areas of east Japan in May-June and south in February-March.

緒　　言

本報では 1954 年の沈澱量分布[1] に引き続いて，1955 年の場合について述べる。試料の採集及び処理の方法は第 1 報と同様であるが，1955 年は O ネットだけを使用した。この試料の詳細な定量結果は報告ずみである[2]。

O ネットで採集されたプランクトンの主体は，親潮水と黒潮水とを問わず，一般に橈脚類である。ただしばしば *Doliolum tritonis*, *Doliolum denticulatum*, *Salpa fusiformis*, *Noctiluca scintillans*, 冷水性珪藻群などの優勢な出現によつて，沈澱量が極度に大きくなることがあるが，このような場合にはその都度説明を加えてゆく。

1955 年 2—3 月の分布 (Fig. 1)

本州東方海では全域を通じて沈澱量は小さく，黒潮主流以北でとくに大きいというような傾向は全く見られない。むしろ親潮接岸分枝の基部で極端に低密 (0.3—0.5 cc) なことが注意を引く（この値は黒潮水よりも小さい)。また 38°N, 148°E 附近のやゝ高温な水も 0.5 cc 前後に過ぎない。黒潮主流の北側 38°N に沿つて 0.7—1.2 cc のやゝ高密な海域がある。主流以南の純粋な黒潮水は 0.5—0.9 cc である。沈澱量のとくに大きい st. A (10.3 cc) 及び B (3.0 cc) は *Calanus helgolandicus* がその主体となつている。

本州南方の黒潮水は本州東方の黒潮よりむしろ高密で，沖合部においてさえ 0.7—1.5 cc を示す。遠州灘冷水塊周辺（中心部は資料がない）は大体 1.5—3.0 cc に達する。沖合の st. C (3.5 cc) には *Salpa*

1957 年 5 月 1 日受理

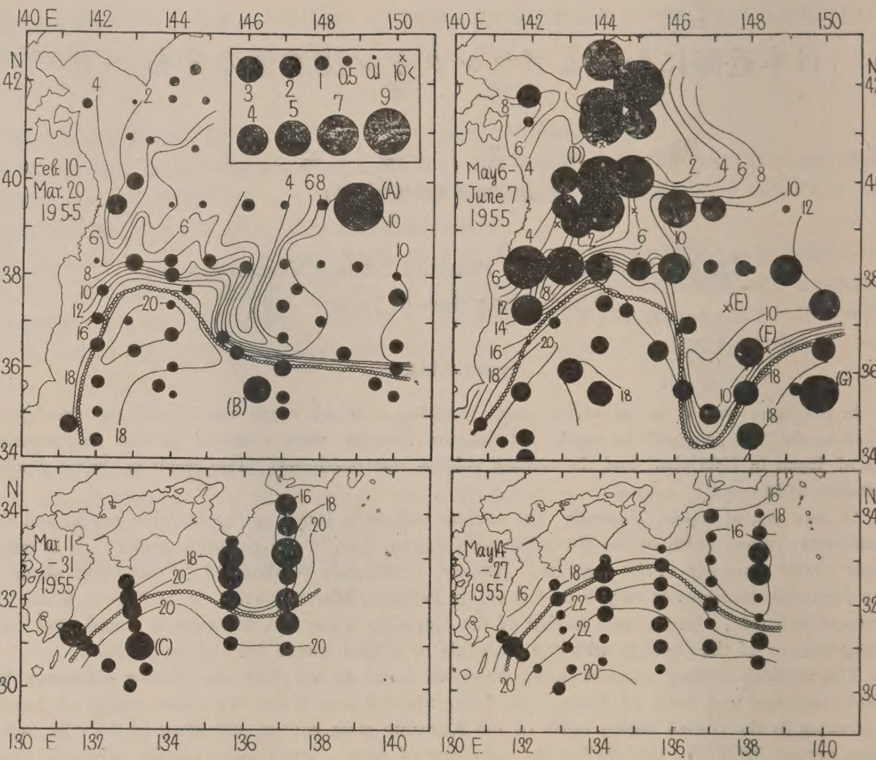


Fig. 1. Plankton settling volume (cc/m^3.) in the upper 100-m. layer and water temperature (°C.) at 100-m. depth in February-March and May-June, 1955. Chained line shows the location of the Kuroshio main current.

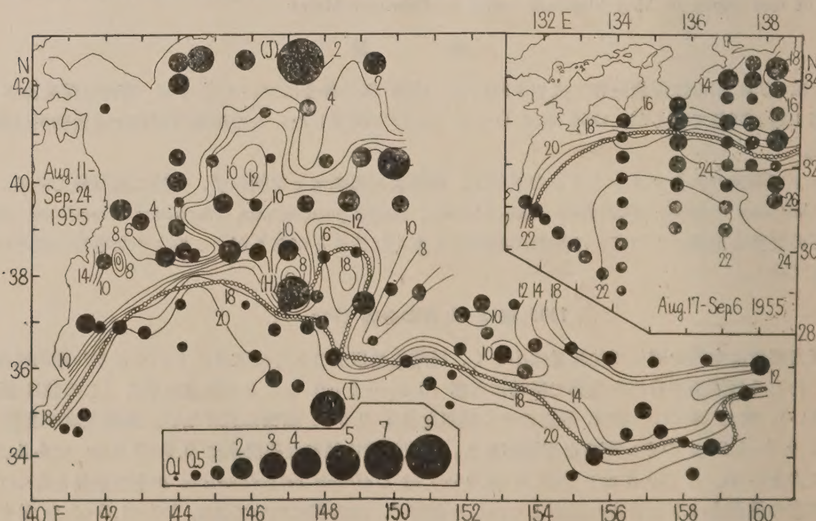


Fig. 2. Plankton settling volume (cc/m^3.) in the upper 100-m. layer and water temperature (°C.) at 100-m. depth in "Norpac Expedition" in August-September, 1955. Chained line shows the location of the Kuroshio main current.

fusiformis が多数出現した。

1955 年 5—6 月の分布 (Fig. 1)

今期の親潮水の沈澱量は，1954 年 5—6 月の場合と同様に，他の季節とは比較にならないほど大きい。ここでは *Calanus pulmchrus*, *Clausocalanus minutus*, *Metridia lucens* などの冷水性の橈脚類が主体となつている。かつ 1954 年のように著しく珪藻に富んだ試料はあまり見られず，st. D (9.0 cc) に *Rhizosolenia hebetata* f. *semispina* の卓越する顕著な厄水組成が現われた程度である[3]。親潮水と黒潮水との潮境（等温線の密な部分）附近一帯，及び st. E (11.9 cc), st. F (13.3 cc), st. G (9.4 cc) などには，*Doliolum tritonis* が出現して沈澱量の主体となつている。また金華山はるか沖合の 38.5°N, 147°E 附近には 1.0 cc 以下の低密部があるが，ここは 2—3 月も低密部が形成されていた。主流以南の黒潮水中では，沈澱量は 2—3 月より増加し，1.2—2.0 cc になつている。

本州南方の黒潮水は大体 0.4—1.0 cc で，2—3 月より減少しているが，主流附近ではこれより高密で大体 1.0—1.5 cc を示している。また遠州灘冷水塊周辺の 2 点では 1.5 及び 2.1 cc に達する。

1955 年 8—9 月の分布 (Norpac Expedition) (Fig. 2)

本州東方海域では，主流以北は大体 1.0—2.0 cc であり，5—6 月に較べ激減している。また親潮水中でとくに高密を示すという傾向も見られない。40°N, 146°E を中心とする暖水塊は 1.0 cc 以下で，周辺部よりかなり低密であり，純粋な黒潮水と同程度である。主流以南の黒潮水も 5—6 月より減少し 0.5—1.0cc になり，152°E 以東のはるか沖合においても大体この密度が保たれている。高密点として，st. J (8.7 cc) には *Chaetoceros concavicornis*, *C. peruvianus* などの大増殖があり（珪藻の極めて多い試料はこれだけ）また st. H (4.5 cc) では *Doliolum tritonis* が主体となつている。st. I については試料を観察しなかつた。

本州南方の黒潮水では 5—6 月と大差なく，沖合は低密で 0.5—1.0 cc であるが，黒潮主流附近及び冷水塊周辺では大体 1.0—2.0 cc を示す。

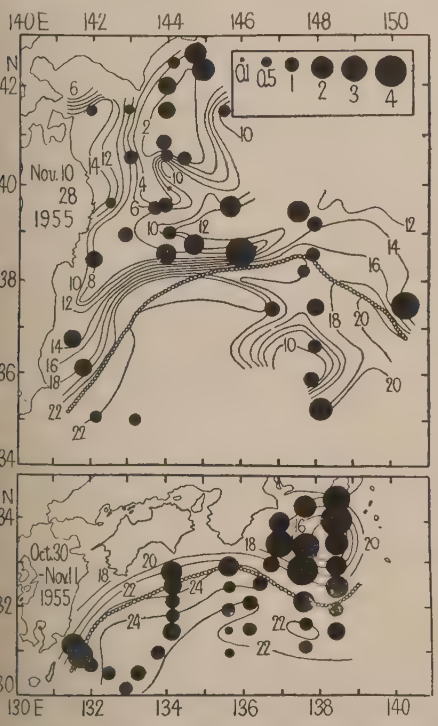


Fig. 3. Plankton settling volume (cc/m³.) in the upper 100-m. layer and water temperature (°C.) at 100-m. depth in October-November, 1955. Chained line shows the location of the Kuroshio main current.

1955 年 10—11 月の分布 (Fig. 3)

沈澱量は親潮の基部の 2 点 (2.0 cc) を除けば，概ね 0.5—1.0 cc でかなり小さい。金華山東方で黒潮主流の北側の潮境に沿つて 1.5—2.0 cc のやゝ高密な点が分布する。主流の南では観測点が不充分であるが，大体0. 4—1.0 cc である。

本州南方の黒潮水では，沖合は大体 0.5—1.0 cc であるが，主流附近で 1.0—2.0 cc に増加し，とくに冷水域では 1.5—3.0 cc に達する。

要　　約

1955 年日本近海におけるプランクトン沈澱量の分布はつぎのように要約され，その分布の特徴は 1954 年における場合とよく似ている。

本州東方海域では，一般に沈澱量は黒潮主流北部の親潮水及び混合水の方が，南の黒潮水より多い。親潮水中では季節による変動が烈しく，5—6 月の大

増殖期には 10 cc 前後の高値を示すが，2 3 月には 0.3−0.5 cc という黒潮水にも見られない低値を示し，また 10 −11月には 0.5 1.0 cc で黒潮水と大差ない。沈澱量は一般に親潮水と黒潮水あるいは沿岸水などにより形成される潮境周辺で増加する。

黒潮水の沈澱量は本州東方と南方とで充分特徴ある差違は認められず，大体 0.5−1.0 cc の間にある。本州南方海では，主流附近及び遠州灘冷水塊の周辺で沈澱量の増加する場合が多い。本州東方海では，主流の北部に派生した黒潮暖水塊は南部の純粋な黒潮水と同程度の沈澱量を保つている。沈澱量の季節変化はあまり明瞭ではなく，東方海では 5−6 月に，南方海では 2 3 月に，それぞれ若干高密になる傾向が見られる程度である。

文　　献

1) 丸茂隆三 ： 本誌 **23** (4), 187 (1957)

2) Central Meteorological Observatory : Resul. Meteorol. a. Oceanogr. Observ., **16**, 67 -120 (1955), **17**, 41—43, 67—68, 100—107 (1956), **18**, 41—90 (1956).

3) 丸茂隆三・天野充 ： 日本海洋学会誌, **12** (2), 53—58 (1955).

アサクサノリ(*Porphyra tenera* KJELLM.) 糸状体の生態—IV*. 稀釈海水の影響について

山崎 浩**・下中元信・福原昭典
(東京大学農学部)(広島県水産試験場)

Studies on the Ecology of *Conchocelis*-phase of *Porphyra tenera* KJELLM—IV. On the influence of the diluted sea water on the growth and maturity of *Conchocelis*

Hirosi YAMASAKI, Motonobu SITANAKA and Akinori FUKUHARA

It is said that the seed of *Porphyra tenera* KJELLM. (Asakusanori) in culture ground appears in more abundance or in earlier time when the water is salty So we studied on the influence of the sea water of various concentration on the formation of sporangium and the liberation of spore in the *Conchocelis*- phase. The results are as follows :

1) The growth of *Conchocelis* gets worse in dilute sea water than in the normal. The branching of filaments becomes scanty in low concentrated water.

2) The formation of sporangia is delayed in dilute sea water than in the normal in the beginning, but afterwards many sporangia are formed.

3) The liberation of the spore decreases in dilute sea water than in the normal.

従来から東京湾奥部の大森，羽田などの漁場のように，直接河川の影影を受け易い所では，秋芽の附着の遅速，良否はその年の夏期の雨量に左右されると言われ，また夏期降雨が少く，日干りの年は秋芽の出現が早いことが経験的に知られ，そのほか一般にはたね取りは高比重の所で，養殖は低比重の所で良いと言われている。このようにたね取りと比重とは密接な関係があるようである。著者らは 1953 年以来，稀釈海水にたいする糸状体の成長及び胞子嚢形成，放出に対する影響について実験してきたのでその結果をここに報告する。

本文に入るに先立ち始終御指導を賜つている東大農学部新崎盛敏博士と広島県水産試験場の竹内卓三場長とに厚くお礼申上げる。なおこの研究の一部は文部省科学試験研究費によつてなされた。

実験方法及び実験結果

1. 成長に対する影響

東京都大森産の“地子”ノリから 1954 年 1 月 28 日マテ介殻につけ、5 日後からそれぞれ Cl′ 24.7‰ (pH 8.3), 17.7 ‰ (pH 8.1), 12.4 ‰ (pH 7.9), 7.2 ‰ (pH 7.4), 3.6 ‰ (pH 7.0) の 5 段階の稀釈海水中に前記の介殻数個を入れて培養し，同年 4 月 2 日，5 月 10 日に糸状体の長さ（主岐,分岐部とも）を測定した。それ以後は長さを測定することが出来なかつたので観察のみを続けた。

* 山崎 昭和 29 年 11 月関東支部例会で講演
** 現在静岡県水産試験場伊豆分場勤務

Table 1. The effect of chlorinity of sea water upon the growth of the *Conchocelis*-phase (cultured from Jan. 28 to April 10, 1954)

chlorinity cl. (‰)	24.7	17.7	12.4	7.2	3.6
average total length of Conchocelis (μ)	230	1100	530	145	85

測定結果を第一表に示した。この実験では光などの関係で成長は全般に良くなかったが普通海水（Cl′ 17.7 ‰）で培養したものは4月2日（培養後 65 日）には全長平均 1100 μ に達したが、12.4 ‰ に稀釈したものでは普通海水での成長の約半分の 500 μ 程度であつた。ついで Cl′ 24.7, 7.2, 3.6 ‰ と漸次成長は阻害されていた。またこれらの糸状体は形態的にも差異が見られ高塩分のものでは5月 10 日においてもほとんど分岐せずたゞ主岐のみが成長していた。低塩分のものにおいても塩分が低くなるにつれて分枝が少く，普通海水のものと比較するとあたかも縮まつたような形で成長していた。Cl′ 3.6 ‰ のものは9月中旬になつて初めて死滅し初めた。なお pH 5.5 に保つた海水で培養したものでも，分岐部はほとんど発達せず主軸のみが成長していた。

2. 胞子囊形成胞子放出に対する影響

実験（I）この実験ではおもに胞子囊形成に対する影響を調べた。東京大森産のノリをマテ介殻につけ，次の条件で培養し，その糸状体に形成された胞子囊の数をしらべた。

A．1953 年 11 月 15 日に糸状体とし，1954 年 7 月 17 日まで普通海水で培養，以後試水に入れたもの

B．1954 年 1 月 28 日に糸状体とし，同年 2 月 2 日まで普通海水で培養，以後試水に入れたもの

C．1954 年 4 月 12 日に糸状体とし，同年5月4日まで普通海水で培養，以後試水に入れたもの

D．1954 年 4 月 12 日に糸状体とし，同年 7 月 17 日まで普通海水で培養，以後試水に入れたもの

試水は普通海水（三崎臨海実験所附近の海水）に水を 0、1/3、1/2、2/3 の割合で混入したもので培養期間中は月 1～2 回の換水を行つた。胞子囊の形成は前報[1]にも述べたごとく一般には8月上旬頃から形成され始める。この実験においても丁度この頃から初まり，8月 11 日には胞子囊中に胞子が 2～3 個形成され始めていた。この頃のものからノリ胞子の星状の色素体は明瞭に観察することが出来る。そこで 1954 年8月 11 日と同年 10 月 28 日に形成されている胞子囊の数をしらべた。なお胞子の放出は9月中旬から始まり 10 月に入つて盛期になつたので同年 10 月 30 日以上の条件で培養した糸状体を普通海水にもどし午前7時から8時[2]の間に放出された胞子の数をしらべた。胞子囊の形成に対する結果は第2表に示した。糸状体に形成される胞子囊の数は海水の稀釈度によつて異り、稀釈度の大きいほど形成される胞子囊数は少く、また稀釈海水で長い期間培養したものほど胞子囊数は少い。すなわち2月2日から稀釈海水に入れたもの (B) 及び5月4日に入れたもの（C）には 8 月 11 日の観察では、1/2 稀釈以下のものはほとんど胞子囊が形成されていなかつた。ところが 7 月 17 日に各試水に入れられたもの（A、D）では 8 月 11 日までに 1/3 稀釈のもので普通海水の約半数、1/2～2/3 稀釈のものでは約1/10 程度の胞子囊が作られていた。

Table 2. The effect of the diluted sea water on the formation of sporangia.

diluted rate \ date / series	Aug. 11 A	Aug. 11 B	Aug. 11 C	Aug. 11 D	Oct. 28 A	Oct. 28 B	Oct. 28 C	Oct. 28 D
0	++	+++	++	++		+++	+++ (184)	+++ (104)
1/3	+	+	+	+		++++	+++ (48)	+++ (70)
1/2	r	0	0	+		0	+ (0)	++ (54)
2/3	r	dead	0	r		dead	0	r

Before the treatment, *Conchocelis* had been cultured in normal sea water for various periods : Series A. from Dec. 15, 1953 till July 17, 1954 ; Series B. from Jan. 28, 1954 till Feb. 28 ; Series C. from April 12 till May 4 ; Series D ; from April 12 till July 17.
Remarks : figures in ( ) show number of spores liberated from the *Conchocelis*

しそれ以後は稀釈海水中のものでも次第に胞子嚢が形成され始め，10 月 28 日の観察においては 1/3 稀釈のものは普通海水のものとほとんどその数において差が見られず，1/2 稀釈のものでも次第にその数が増加してきた。またこの際にも稀釈海水に入れられている期間が問題になるようである。すなはち早くから試水に入れられたもの（B，C）は普通海水のものの 1/4 以下の胞子嚢が形成されているにすぎなかつたが，7 月 17 日に試水に入れたもの（D）では普通海水のものと大した差は見られなかつた。さらにこれらの糸状体から放出された胞子の数をしらべた。この結果でも放出された胞子の数は稀釈度によつて異り，また培養期間によつてもかなりの差があるようである。すなわち実験（C）で 1/2 稀釈のものは胞子嚢は形成されているが胞子はほとんど放出されず，（D）では普通海水で培養された糸状体の放出胞子の約半分であつた。

実験（Ⅱ）実験（Ⅰ）から稀釈海水で培養される期間が相当短期間でも放出される胞子の数に差があることが判つたので，この実験においては胞子嚢の初期の形成が見られてから稀釈海水に入れ，放出される胞子の数をしらべた。供試材料は 1955 年 1 月 25 日に広島市草津町産のノリから牡蠣殻に糸状体とし，介殻面がほゞ黒紫色となり，胞子嚢の初期形成が見られる介殻を約 2.5 糎平方の小片とし，同じ介殻の糸状体が同一条件のものに入らないように組合せ 5 片宛を次の試水に，時期別に 3 回（1955 年 7 月 28 日，同年 8 月 13 日，9 月 5 日）移しかえた。なお移しかえるまでは普通海水で培養をつづけた。試水は普通海水（草津沖合の海水）に水を 0（Cl′ 15.6 ‰），1/3（Cl′ 11.0 ‰），1/2（Cl′ 8.2 ‰），2/3（Cl′ 5.4 ‰）の割合で加えたものでこの外 1/2，2/3 稀釈のものに第二燐酸ソーダを加えたものについて実験した。胞子の定量方法は定量日の前日 17 時項に各実験別の介殻のほゞ中央に小さな穴をあけ，ひもで通じて管瓶（内径 3.5 糎，高さ 10 糎）に垂下し，普通海水を入れて底に径 3 糎の円形ガラス板をおき，ガラス板に附着した胞子の数を翌日 10～12 時の間にしらべた。実験後は再び糸状体をもとの試水に入れ，以後の実験にくりかえして使用した。胞子の定量は 10 月 4 日から 11 月 14 日の間 7 回行つた。胞子定量の結果を第 3 表に示した。

Table 3. Influence of Chlorinity of sea water on the liberation of spores from the *Conchocelis.*

Exp. / chlorinity / date		E				F			
		15.6	11.0	8.2	5.4	15.6	11.0	8.2	5.4
Oct.	4	4	5	2	0	0	0	0	0
〃	15	33	3	1	0	9	4	5	2
〃	21	18	7	7	0	20	11	6	3
Dec.	1	199	4	36	2	114	15	92	2
〃	4	437	244	196	1	262	125	77	2
〃	9	220	149	72	2	1,559	512	90	3
〃	14	12	6	8	1	1	4	7	3
Total		923	418	322	6	1,965	671	277	15

Figures show number of spores liberated from the *Conchocelis.* The *Conchocelis* had been cultured in normal sea water, from Jan. 25 till July 28 in Exp. E, and till Sep. 5 1955 in Exp. F, when the treatment respectively started.

胞子の放出は 11 月になつて多くなり，何れの場合も 11 月 9 日の放出量が最も多く，それ以後は急激に減少した。胞子の放出量と海水の稀釈度との関係は実験（Ⅰ）の結果とほゞ同様で稀釈度が大きいほど，また長い期間稀釈された海水で培養されたものほど放出数は少い。1/3 稀釈では普通海水の約 1/2～1/3 程度の放出数であつた。しかも 2/3 稀釈（Cl′ 5.4 ‰）になると放出数は極めて少くなることが判つた。なおこれらに燐酸ソーダを加えたものではその効果はほとんど認められなかつた。以上のことから稀釈した海水で培養された糸状体から放出される胞子の数は稀釈度に比例して少く，2/3 稀釈以上になるとほとんど胞子の放出は見られない。

考　　察

新崎らは[2)3)] 1953 年の実験において塩素量が 10 ‰以下になると糸状体の生長及び胞子嚢の初期形成が遅

れることを見たが，その後，黒木[4]，須藤らによつても糸状体の生長は稀釈した海水中では阻害されることが確められた。すなわち糸状体は相当稀釈した海水中でも生存し得るけれども，生長は著しく阻害されると云える。胞子嚢形成にたいする稀釈海水の影響について黒木[5]は稀釈海水でも大した影響は見られなかつたと述べている。著者らの実験では稀釈度の大きいほど胞子嚢の初期形成の時期は遅れるが，それ以後稀釈された海水中のものでも次第に多くの胞子嚢が形成され、10 月下旬頃では 1 2 稀釈程度のものまで大した差は見られないようになつてきている。しかし胞子放出数の調査結果から見ると胞子嚢は形成されているけれども稀釈海水で培養した糸状体からの胞子放出数は稀釈度に比例して少くなつている。八柳ら[6]は天然でこれらの実験を行い常に塩素量の高い場所での胞子嚢の形成が早く，湾深部の塩素量の低い場所に行くにつれて次第に遅くなつてきている。従つて塩素量が 8 ‰以下の場所は糸状体の培養には不適であると報じている。また斎藤[8]の実験においてもほゞ同様の結果を得ている。以上の実験結果からすると比重の低い場所でたねつけ時期が遅れたり附着が少いのもこれらのことに起因するのではないかと考えられる。

要　　約

糸状体の生長，成熟及び放出に対する稀釈海水の影響についてしらべた。

1) 稀釈海水で培養した糸状体の生長は普通海水のものに比べて悪く、分岐も少ない。

2) 稀釈海水で培養した糸状体の胞子嚢形成はその初期（8 月上旬）は普通海水のものより遅れるが、その後次第に数を増し、10 月中、下旬の頃には普通海水のものとほとんど差がなくなる。

3) 稀釈海水で培養した糸状体から放出される胞子の数は普通海水のものより少く、稀釈度に比例して減少する傾向がある。

参　考　文　献

1) 山崎　浩： 日水会誌 **30**，6，1954

2) 新崎盛敏その他： 文部省科研費，綜合研究報告集録（生物、農学）1952、'53

3) 新崎，山崎： 日水学会，大会講演 1953，11

4) 黒木，平野： 日水学会，年会講演 1954，4

5) 黒木宗尚： 東北海区水研報告 **4**，262 1955

6) 八柳健郎外： 山口内海水試業績 **8**，1，1956

7) 広島水試報告： **17**，3，1956

8) 斎藤雄之助： 日水会誌 **22**，1，1956

マラカイトグリーンのニジマスのビブリオ病菌に対する発育阻止力に就て

保科利一・千葉胤和
(東京水産大学)

On the bacteriostatic power of malachite green against the causative bacteria of vibrio-disease of rainbow-trout.

Toshikazu HOSHINA and Tanekazu CHIBA

Bacteriostatic effect of malachite green against the causative bacteria of the vibrio-disease of rainbow-trout was studied by following method.

A series of test tubes containing 0.0020～0.010 mg malachite green (at 0.0005 mg intervals) made by adding 0.1 cc aqueous solution of malachite green in concentration 0.02～0.10 mg/cc, to 9.9 cc bouillon, was prepared. Several test tubes containing 9.9 cc bouillon and 0.1 cc sterile distilled water served as control. These tubes were inoculated with a loopful of the bacteria from agar slope culture, which were suspended in physiological salt solution (2 mg/10 cc) and they were cultured for 24 hours at 22°C.

The growth of the bacteria in each medicated tube was measured on comparision with that of the control tubes which were regarded as 100 % growth.

The results obtained are as follows : The relation between the bacterial growth and malachite green concentration is shown in a sigmoid curve (Fig. 1).

The growth at the concentration of 0.002 mg malachite green to 10 cc broth and that at 0.01 mg to 10 cc. was 100 % and 0 %, respectively. The concentration of malachite green to check the growth of the bacteria in 50 % was calculated as 0.0052 mg/10 cc broth.

The details are compiled in the Table and Fig. 1.

本文は日本の各地の養鱒場に於て観察されるニジマスのビブリオ菌病の防除に関する基礎的な研究の一つとして，その病菌，*Vibrio piscum* var. *japonicus* Hoshina，1957，に対するマラカイトグリーンの静菌作用に就て調査した報告である。本研究の一部は文部省科学試験研究費に負うことを記し茲に深謝の意を表する。

1 供試菌株並びに実験方法　静岡，群馬，鳥取の各県下の養鱒場より得た典型的なニジマスの病魚より分離した3菌株に就て予備的な実験を行つた結果，菌株により著明な差異を認められなかつたから，本実験には静岡県下の綾部養魚場産の病魚の患部より分離した（1956 年 5 月）菌株を使用した。実験の方法は先ず培地としてブイオン（ポリペプトン 10 g，肉エキス 5 g，食塩 2.5 g，蒸溜水 1000 cc，pH 7.0）10cc 中にマカライトグリーンを 0.0005 mg の差で 0.0020～0.0100 mg 迄を加えた一連の試験管を準備した。

同時に対照としてブイオン 10 cc を含む試験管を準備，之等に供試菌の食塩水浮游液（寒天斜面，24 時間培養菌約 2 mg を 10 cc の無菌生理的食塩水に浮游させた）を 1 Öse 宛（線の太さ 0.8 mm，Öse の経 4 mm）移植し，22°C 24 時間培養後，培地の混濁度から菌の発育度を定量した。標準としては対照試験管の発育度を 100 % と定め，これと定量すべき試験管の発育度とを比べ，後者を % を以て表わした。比濁は対照試験管のブイオンを無菌ブイオンで定量的に稀釈し，これと，定量すべき試験管のブイオンとをエルマーの光電比色計用の比色管に夫々 5 cc づつとり，光線の当て方を工夫して肉眼的に行つた。例えば定量すべき試験管の混濁度が対照試験管のブイオン 0.1 cc に対し 9.9 cc の無菌ブイオンを加えたものに等しければ，前者の発育度は 1 % と定めた，以下これに準ずる。尚無菌ブイオンには適量のマラカイトグリーンを加え，両者の色調を等しくした。

1957 年 6 月 14 日受理

Table 1 The growth of the bacteria in the broth containing malachite green

Concentration of malachite green (mg/10 cc)	Growth of the bacteria (%)			Concentration of malachite green (mg/10 cc)	Growth of the bacteria (%)		
	Exp. 1	Exp. 2	Average		Exp. 1	Exp. 2	Average
0	100	100	100	0.0060	34	34	34.0
0.0020	〃	〃	〃	0.0065	19	20	19.5
0.0025	99	99	99.0	0.0070	17	16	16.5
0.0030	98	97	97.5	0.0075	8	9	8.5
0.0035	95	95	95.0	0.0080	7	7	7.0
0.0040	90	92	91.5	0.0085	6	6	6.0
0.0045	75	75	75.0	0.0090	5	5	5.0
0.0050	68	69	68.5	0.0095	1	1	1.0
0.0055	40	39	39.5	0.0100	0	0	0

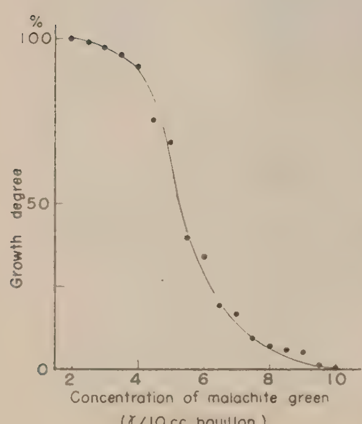


Fig. 1. Growth curve showing the effect of malachite green on *Vibrio piscum* var. *japonicus*

2 実験結果　本実験は全く同じ方法で2回行つた。其の結果は Table 1 及び Fig. 1 に示す通りである。

Fig. 1 に示す通りマラカイトグリーンを含む培地に於ける本菌の繁殖状況はS字状曲線として示されるので Table 1 に示した平均値から定差図を作つて検討して見るとマラカイトグリーンの濃度と菌の発育度との関係は, Verhulst の式 $y=\dfrac{L}{1+\exp\{-r(x-a)\}}$ に近似的に適合することが認められた。茲に y は菌の発育度, x はマラカイトグリーンの濃度, L は y の極限値この場合 100 %, a は $L/2$ の値, r は曲線の傾斜度を表わすパラメーターである。定差図から菌の発育度が 50 % となるマラカイトグリーンの濃度を計算すると 0.0052 mg/10 cc ブイオンとなつた。

3 論　議　前述の実験は2回とも殆んど同じ結果を示したのでマラカイトグリンの本菌に対する発育阻止力を略, 正確に表わして居ると思われる。ブイオン 10 cc中 0.010 mg のマラカイトグリーンを含む場合は完全に発育が阻止される。然し殺滅されることはない。

24 時間の後この試験管より subculture を試みたところ, 明かに菌の繁殖が観察された。予備的な実験で 0.020 mg/10 cc の濃度では 24 時間後死滅することが認められた。以上の通りマラカイトグリーンの本菌に対する静菌作用及び殺菌力も強烈であることが知れる。魚類の細菌性疾病の治療にマラカイトグリーンの応用を試みられた例は, finrot と呼ばれるマスの病気に用いられたものがあるが, 効果的でなかつたという (Davis p. 278)。本病の治療に本剤を応用し得るや否やは将来の研究に待ちたい。又本病の場合も癤瘡病に於けるように, 罹病魚より得た卵は其の表面が病菌により汚染されて居ることがある。故に卵の消毒という事が問題になるが, Gee and Sarles (1942) 等によると癤瘡病の病菌, *Bacterium salmonicida* を 10 分間で殺菌し得るマラカイトグリーンの濃度は 0.034 %, マス卵と菌が共存する場合は 0.17 %, 一方 10 分間の処置でニジマス卵に有害となる濃度は 0.07 % であるという。本菌を 10 分間で殺菌し得る濃度は 0.025 % であつて[4] 本菌は *Bacterium salmonicida* よりは抵抗力が弱いが Gee and Sarles 等の実験成績から考察すると, 本剤を本病菌を対称としてのマス卵の消毒に利用することは見込み薄いように考えられる。

結　論　マラカイトグリーンのニジマスのビブリオ病菌, *Vibrio piscum* var. *japonicus* に対する発育阻止力を調べ次の結果を得た。マラカイトグリンの濃度と菌の発育度との関係はS字状曲線として表わされ, ブイオン 10 cc 中にマラカイトグリーン 0.010 mg を含むときは完全に菌の発育が阻止され, 0.0020 mg

では全く阻止力が認められなかつた。又 50 % の発育を示す濃度は 0.0052 mg/10 cc と計算された 。

参　考　文　献

1. Davis, H. S. 1953. Culture and disease of game fishes. University of California Press. Berkely and Los Angeles.
2. Gee, L. L. and Sarles, W. B. 1942. The disinfection of trout eggs contaminated with *Bacterium salmonicida* J. Bact. Vol. 44, pp. 111—126.
3. Hoshina, T. 1956. An epidemic disease affecting rainbow-trout in Japan. J. Tokyo Univ. Fish, Vol. 42, pp. 15—16.
4. ———. 1957. Further observations on the causative bacteria of the epidemic disease like furunculosis of rainbow-trout. Ibid. Vol. 43, pp. 59—66
5. 鳥居敏雄，土肥一郎，1953. 回帰関係或は時係列の分析に関する二，三の方法について，化学の領域増刊，11 号〔第 2 集 Bioassay と推計学〕pp. 143—153.

カキ殻内のアサクサノリ糸状体の分布に関する観察

田 中 小 治 郎
（香 川 県 水 産 試 験 場）

Observation on the Distribution of "*Conchocelis*-phase" of *Porphyra tenera Kjellman* in the Oyster-shell

Kojiro TANAKA

The shells of *Ostrea denselamellosa* were experimentally set near to the mature thalli of *Porphyra tenera* in the sea from Feb. 6 till Apr. 8 1956. Then the *Conchocelis-phase* of porphyra invaded within the shells was cultured in a laboratory tank till June 6, when the growth and distribution of *Conchocelis* was examined.

It was acknowledged that the *Conchocelis* grows in a greater number in the left valva than the right ones, and it distributes in most abundance in the section A of the shell, shown in Fig. 1 (Tab. 1).

As to the vertical distribution, the *Conchocelis*-phase appears in every layer spreading from the sea surface to the bottom of about 250 cm. in depth, and especially in abundance in 24–36cm. zone above the bottom. (Tab. 2).

As the chalky-deposit of the oyster shell becomes thinner where the surface layer of the shell shows dark violet color owing to the luxuriant growth of *Conchocelis*-filaments, it seems probable that the chalky-deposit has some close relation to the growth of the *Conchocelis*.

アサクサノリの果胞子の生育に就ての研究は，*Drew*[1] が 1949 年にチシマクロノリ *Porphyra umbilicalis* の果子が発芽すると貝殻の内層に侵入して "*Conchocelis-phase*" になることを発見したのに刺戟され，わが国においてもこれについての知見[2] は急に加わつた。そのうちでも黒木[3] は 1951 年 12 月 17 日に実験室内でカキ *Ostrea gigas* の貝殻にアサクサノリ *Porphyra tenera Kjellman* の果胞子を附着させ，その発芽体が貝殻の内層に侵入すること，また 1952 年2月 21 日海中にカキ殻を垂下しておいたところ3月 29 日にアマノリ（恐らくアサクサノリ）糸状発芽体がその内層に生育しているのを認めた。

なお須藤[4] によれば，同様のことが同じ年に新崎や田村等によつても観察されたと言う。これらの観察は基質用のカキ殻における果胞子の発芽糸状体の生成に就て専ら論じたものであつて個々のカキ殻内での糸状体の分布状態に関する観察又は実験は全くなされていない。しかし筆者は，この点がノリ養殖上にも重要な問題と考えられるが故に，この観点からする実験をイタボガキ *Ostrea denselamellosa* の貝殻について行つた。その成績並びに所見を述べて同学者の参考に資したいと思う。

実 験 と 観 察

厚さ 6 cm からなるコンクリート製の板をもつて大きさ縦×横×高さ，夫々 62×62×91 cm の枠に組み，潮通しの目的で各側壁を大きさ縦×横，夫々 34×23 cm 切り取つた。そうして各側壁の縦線の一辺上に挿入してある7本の鉄ボートは径 1.5 cm 長さ 15 cm あつて，これらの相互間隔を 12 cm とした。イタボガキ殻に孔をあけ，8 番線針金を通して鉄ボート横架に縛り着けた貝殻数は，1連当り約 130 枚で7連，総数約 900 枚であつた。

上記の装置を香川県丸亀市の土器川裾にあるノリ養殖場に設置し，昭和 31 年2月6日にこの養殖場で育成された広島県草津産ノリ割竹ひび7本を，この装置の側壁に取り着けた。4月8日に貝殻を丸亀市より志度町へ運び，1坪の叩池に蓄養し，6月6日に貝殻の内層に侵入している糸状体の生長と分布状態とを検鏡並びに表面観察によつて調べた。

1957 年 6 月 25 日受理

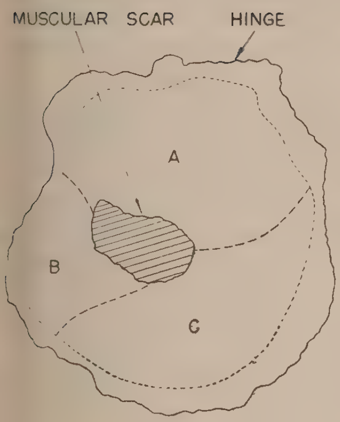


Fig. 1. Showing Section A, B and C in Tables 1 and 2, in a shell of Ostrea denselamellosa.

介殻を *Orton*[5] や田中[6] の方法に従つて区劃し，(Fig 1) 各区劃内に現われた頻度数（50枚の貝殻の中で夫々の区劃に *Conchocelis* の見出された貝殻の数）を調べた結果 *Table* 1 に示す成績が得られた。

糸状体は，例外なく貝殻内に穿入したが，貝殻内の部位によりその生長,分布状態には顕著なる差異が現われた。まず貝殻の左右別では,左殻には右殻におけるよりも多いということが認められた。また貝殻の部位別にみると,凹部をなす内臓塊部（A)*1 に最も多く,吸入腔部（B)*2 はこれについでおり，なお針金を通してある穿孔個所にも糸状体の生育が認められた。貝殻内面上の白墨色を呈する部位では,一面にはびこつた糸状体のために暗紫色を呈するに至つた。

Table 1. Frequency of "Conchocellis-phase" appeared in various parts of the oyster-shell set in the sea.

Section in a shell plate / valble of shell	A*	B*	C*	periphery of a hole through which a steel-wire had been passed to set the shell
right	35	24	21	25
left	44	42	37	13

Figure shows the number of shells in 50 shells used, on which Conchocelis was found developing in the respective section of shell plate.

Table 2. Distribution of "Conchocelis-phase" in relation to the depth where the shells have been set

layers	Section in shell plate / Depth from high water level(cm)	A*	B*	C*	Periphery of a hole through which a steel-wire had been passed to set the shell
1	166	13	9	5	20
2	178	18	12	8	23
3	190	18	14	10	25
4	202	21	15	10	25
5	214	36	20	19	26
6	226	35	24	21	25
7	238	8	4	4	5

Remarks. *. see Fig. 1　　Figure means as in Table 1

なお各連の貝殻で附着数とか生長とかには，差異が生じないであろうかをみるため各連毎に貝殻 50 枚を取り出して，前記と同様の方法によりその頻度数を読み取ると *Table* 2 に示す結果が得られた。

これで見られるように満潮時に水面下 250 cm に近い最下層（No. 7）に位する部位では，糸状体の形成状態は最も不良のようで，少し上層の No. 5, No. 6 等に於てはその形成状態は良好のように見受けられる。最下層の生育不良は，ノリ養殖場に設置中，針金が垂れて貝殻が砂中に埋没していたこともあつたからこんな特殊状態も影響しているのだろう。

考 察 と 論 議

上述のようなアサクサノリ糸状体の生成，分布現象等についての実験観察を以てノリ果胞子の貝殻の内面上に集積する原因並びに本研究に使用したイタボガキ貝殻が，糸状体の生成に及ぼす影響に就て考察してみよう。

まず第一に思い浮かべられることは，貝殻の内面上に糸状体が附着するという現象の起る原因は，実験用装置に取り着けられたノリからの胞子に基くものであろうが，その他ノリヒビ上から摘み採りのさいとか波

* 1, * 2 図表1参照

浪とかにより生ずる「落ノリ」からのも加わる事が考えられる。貝殻の内面上の部位によつて，附着量に顕著な差異が生ずる原因は，新崎[7]等の業績より推して海況の変化つまり潮流の停滞とか渦流とかなどによって胞子の集積量に差が生じたことによるもので，凹形をなす内臓塊部に糸状体が多く分布している事実は，この部位に上記の条件が最も良好に影響を及ぼしているのではなかろうか。なお実験装置のやや中層に位する貝殻に多くの糸状体がみられる原因も亦上記とほぼ同じ理由によるものではなかろうか。

イタボガキ貝殻の構造組成は，マガキ *Ostrea gigas* と相異しているばかりでなく左右両殻を比べても多少異なることは田中[8)9)] (1937, 1944) が既に報告した。このような差異が果胞子の発芽並びに糸状体の生成に影響を及ぼすのではなかろうか。マガキ殻を基質とした場合の実験において黒木は，アサクサノリ果胞子の発芽管の方向につき観察し，またウツプルイノリ *Porphyra pseudolinearis Ueda* では，貝殻の縁においては，その内層に侵入しないで，**Slide glass** を基質とした場合と同様に匍匐或は斜上して多数分枝する糸状体があつたことを報じている。ところでマガキとかイタボガキ右殻とかの貝殻の縁はいわゆる白墨沈澱物が存在しないで主として有機基質と真珠層とから成つている。黒木が報ずるように，貝の縁に附着した果胞子が内層に侵入しないで **Slide glass** を基質として用いた場合とほぼ同じであるという原因は，この貝殻の組成の相違によるものかと思われる。

一方糸状体の生成は，培養の条件によつて同一種に於ても各個間の差異が見られるが，その原因のうち栄養にも左右されるものであろう。

尾形[10)] (1955) は方解石及石灰石に生じた糸状体は，夏を過して秋まで生えのびるが色褪せた malformed 糸状体は，カキ殻によるものよりも，方解石の方に沢山認められたことを報じている。糸状体がよく成長し，密生している貝殻部位では，白墨沈澱物が漸次減少していたがこの事実はマガキばかりでなくイタボガキ貝殻においても同じ現象が見られる。

さて白墨沈澱物の化学的分析は Bull[11)]が *Ostrea edulis* について報告しているが，わが国のカキ類について今のところこの様な分析がないので詳細は今後の検討にまたねばならぬが，以上述べたような事実から糸状体の生成とカキ殻内の白墨沈澱物との間には何等か密接な関係があるように思える。

終りに臨み本研究に当り東大助教授新崎盛敏博士より取り纏めに助言を与えられたことに対し，香川大学附属中学校の氏家由三氏より文献を貸与されたことに対し，また合田理技師より助力を与えられたことに対し厚く御礼申上げる。

摘　　要

イタボガキ貝殻内のアサクサノリ糸状体の分布状態に関する観察を行つた結果は大要次の通りであつた。

アサクサノリをコンクリート製枠に取り着けて海中に置き，その近くにおいたイタボガキ貝殻の内層中に糸状体 *Conchocelis-phase* の穿入生長が見られた。糸状体は右殻におけるよりも左殻における方が多く，そして貝殻内面上の内臓塊部に最も多く分布し，なお針金を貫通した部位にも糸状体の生育が認められた。又深さによつて糸状体の出現に相違があり，海底から 24—36 cm 上方の層に多く出現した。糸状体が一面にはびこつた部位では糸状体の色のために暗紫色を呈し白墨沈澱物は減少することがみられたが，これは恐らく白墨沈澱物と糸状体の生長とに密接な関係があるのだろう。

文　　献

1) Drew, K. M. : *Conchocelis-phase* in the life-history of *porphyra umbilicalis* (L.) Kutz *Nature*, 164 (4174), (1949).
2) 水産庁調査研究第二課 : アサクサノリの糸状体について，普及パンフレット第8号，1—16 (1954)
3) 黒木宗尚 : アマノリ類の生活史の研究，第1報，果胞子の発芽と成長，東北海区水産研究所研究報告，第2号，79，82，96 (1953).
4) 須藤俊造 : アサクサノリの養殖を安定させるために，日本藻類学会，藻類，**1** (1)，19 (1953).
5) Orton, T. H. and Amirthalingan, C. : Note on shell-deposition in Oyster, *J. Mar. Biol Assn.* N,S, **3** (14), (1927).

6) 田中小治郎：牡蠣の貝殻沈澱物に及ぼす鹹度の影響に就て，水産研究誌，**38**（12），222～224（1944）.
7) 新崎盛敏，藤山虎也，斎藤雄之助：アサクサノリ胞子の附着と海況について―Ⅱ，本誌，**22**，167（1956）.
8) 田中小治郎：牡蠣（広島「まがき」及板甫「ガキ」）の白墨沈澱物に就て，水産試験調査資料，第4号．136（1937）.
9) 田中小治郎：牡蠣（板甫，黒姫）の貝殻内の有機物質について，水研誌，**38**（10），186～187（1944）.
10) 尾形英二：石灰質中におけるコンコセリスの穿孔成長，植雑誌，**68**（810），371（1955）.
11) Bull, H. O. : Note on the Chemical Composition of "Chalkydeposits" in shells of Ostrea edulis, *J, Mar. Biol. Assn.* N. S., **14** (4), (1927).

魚類組織のリポキシダーゼに関する研究—I. 肝臓抽出液によるビタミンAの酸化

小野豊樹・永山文男
(東京水産大学)

Studies on the Lipoxidase in Fish Tissues—I. Oxidation of Vitamin A by the Extract of Some Fish Liver

Toyoki ONO and Fumio NAGAYAMA

That the loss of vitamin A content during the storage of fish liver was markedly affected by the temperature and seemed to be caused by a catalytic action of a certain enzyme system was previously reported by the present authors[1].

The authors, now, observed the enzymatic action of the extract of fish liver in the oxidation of vitamin A, and attempted to determine the identity of the soybean lipoxidase and an enzyme in fish liver.

Though our experiment, following facts were found: the vitamin A oxidizing enzyme in fish liver was a lyo-form and was found not only in mackerel liver but in perch liver. The absorption spectra of vitamin A oxidized by the liver enzyme showed the flattening of peak at 328 mμ in our experiments as same as in the usual by air oxidation. The enzyme possessed a special thermal property as having more activity at 60°C. A large quantity of liver oil inhibited the enzyme activity at room temperature, but at higher temperature the activity began to develop by breaking down of inhibitants. The higher fatty acids seemed to be less oxidized in the states of glyceride by the enzyme. The enzyme had many similar properties to the soybean lipoxidase but showed different value from the soybean enzyme in the optimum pH.

著者等は先に[1]魚類肝臓の貯蔵中におけるビタミンAの減少度は貯蔵温度に著しく影響され，その際のビタミンAの減少は或る種の酸化酵素の作用によるものであろうと推測した。その後，ビタミンAを急速に酸化する肝臓中の酵素はリポキシダーゼ類似と考えられる点を認めた。

1932 年 ANDRE 等[2]により大豆中から発見されたリポキシダーゼは COSBY 等[3]により分離され，又 THEORELL 等[4]により結晶化されたが，更に他の豆類[5]，馬鈴薯[6]等高等植物ばかりでなく，動物組織[7,8]にも含まれることが報告された。リポキシダーゼは高級不飽和脂肪酸を酸化するものであるが，FREY[9]，HAUGE 等[10]および HAUGE[11]は乾燥ウマゴヤシのビタミンAの酸化はリポキシダーゼの作用によることを発見し，WILBUR[12]は乳牛の飼料に大豆を混ずれば生産されるバターのビタミンA含量が減少することを発見した。

一方，鉄ポルフィリンが酵素系の存在無しに高級不飽和脂肪酸を酸化する[13]ことが知られているので，動物組織中のリポキシダーゼの存在は疑問とされている。HAUROWITZ 等[14]はヘモグロビンが酸素による脂肪酸の直接酸化を促進させることを観察した。このような作用は，蛋白を含まないヘミンについてもよく知られていることであり，ヘモグロビンを多量に含む動物組織中のリポキシダーゼの存在が疑問とされるのである。しかしながらリノール酸コレステロール・エステルが血液ヘモグロビンにより酸化され難い事実もあり，魚類肝臓中のビタミンAの酸化は，脂肪の酵素的酸化に基因するものと考えられる。

魚類の組織のビタミンAあるいは脂肪酸の酸化酵素に関してはいくつかの報告がある。即ち BROCKLESBY 等[15]は鮭の肝臓によるビタミンAの酵素的酸化について，BANKS[16),17]はニシンの筋肉，KHAN[18]はニシン血合肉のリポキシダーゼについて報告した。

1957 年 5 月 22 日受理

著者等は魚類組織のビタミンA酸化作用を観察し，大豆リポキシダーゼと魚類組織の酸化酵素との異同および不飽和脂肪酸酸化の機構を明らかにしたいと考え研究を続けているので，その結果の一部を報告する。

実　験

試料　(1)　サバ肝臓アセトン粉末　新鮮なサバ *Scomber japonicus* の肝臓を擂潰し5倍容冷アセトンを加え暗所で数時間振盪し，綿布で濾し更に3倍容のアセトンと振盪，アセトンを除き低沸点石油エーテル3倍容で振盪，濾過後乾燥する。

(2)　大豆アセトン粉末　大豆を粉砕し上と同様に処理する。

(3)　肝油　0.1％アルカリで精製し，洗滌後乾燥したマグロ肝油 (80,000 IU/g) を用いた。

(4)　酵素液　乾燥粉末を pH 5.4 の M/15 燐酸塩緩衝液3倍容で冷所1時間抽出後遠心分離し，上澄液を用いた。

方法　酵素液 30 ml に乳化剤として CMC (carboxymethyl cellulose) 1.5 g を溶かし，肝油 0.2 g を加え低温で乳化し 37°C に incubate する。一定時間後メタノール 5 ml と精製したエチルエーテル 50 ml を加え振盪し肝油をエーテル層に回収し，そのビタミンA含量を比色法又はスペクトル法で測定し，ビタミンAの減少量から酵素活力を推定する。

結果および考察

ビタミンA濃度の影響　反応液のビタミンA濃度がビタミンA酸化の度合におよぼす影響について実験を行つた。Table 1 に示すように 37°C におけるビタミンA酸化の度合はビタミンA濃度の高い試験区に小さいが，60°C はおいてはビタミンAの濃度による差異が認められない。この場合温度の影響が大きかつたものと考えられる。

Table 1.　Effect of vitamin A in various concentration.

Time, hr. / Vit. A / Temp., °C.	0		2		24	
	Content I.U.	Loss %	Content I.U.	Loss %	Content I.U.	Loss %
37	500	0	335	33.0	135	73.0
60	500	0	325	35.0	—	—
37	6800	0	5960	12.5	—	—
60	6800	0	4370	35.8	—	—

基質（油脂）濃度の影響　肝油 58.6％を含む反応液 (a) と 34.7％を含む反応液 (b) について実験した結果は Table 2 に示すように，(a) の場合 37°C では反応が抑えられ 60°C では反応が正常に進行するようであり，(b) ではビタミンAの破壊が温度に関係なく顕著である。肝臓粉末 1 g が 24 時間に酸化したビタミンA量は (a) で 1,252 IU，(b) で 1,870 IU で a/b=1.5 であつた。

Table 2.　Effect of substrate (oil) in various concentration.

		Loss of vitamin A, %					
Oil concentration, %		58.6				34.7	
Temp., °C.		37	60	37	60	37	60
Enzyme		Mackerel liver		Control		Mackerel liver	
Incubation time, hr.	0	0	0	0	0	0	0
	2	6.9	10.0	0.9	1.8	12.7	13.7
	4	8.2	8.6	2.7	—	16.5	17.1
	6	8.8	19.5	3.0	9.5	22.8	25.8
	10	9.0	23.7	4.4	14.0	24.1	30.0
	24	10.4	26.1	5.3	—	38.9	48.1

酵素の型　ビタミンAを酸化する肝臓の酵素は水溶性と考えられるが，それを確認するための実験を行つた。乾燥粉末 10 g を M/15 燐酸塩緩衝液 60 ml で1時間抽出し，遠心分離した上澄液と沈澱についてそれぞれの酵素活力を測定した。Table 3 に示したように上澄液の酵素活力が強く酵素は水溶性であることが明らかである。

Table 3. Type of the enzyme.

Incubation time, hr.		0		2	
Temp., °C.	Vit. A / Fraction	Content I.U.	Loss %	Content I.U.	Loss %
37	Filtrate	2000	0	292	85.4
	Residue	3080	0	2728	11.4
	Control	1984	0	1956	1.5
60	Filtrate	2000	0	684	65.8
	Residue	3080	0	2688	12.7
	Control	1984	0	1936	2.3

温度および pH の影響　温度および pH による酸素活力の変化は酸素の純度によつても左右されるので，粗酵素標品では満足すべき結果を得られないが，本実験では粗標品について大略の傾向を観察した。

（1）　温度の影響　0°，17°，37°，60°C での実験の結果は Fig. 1 に示すように，0°C 以外は最初の3～5 時間に反応が急速に進み，その後は極めて緩慢である。低温では酵素作用が極めて小さいと考えられる。

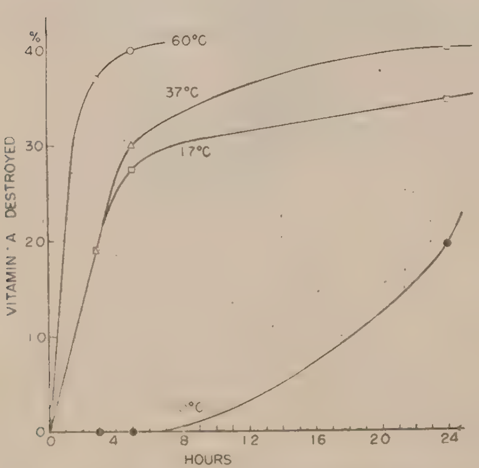
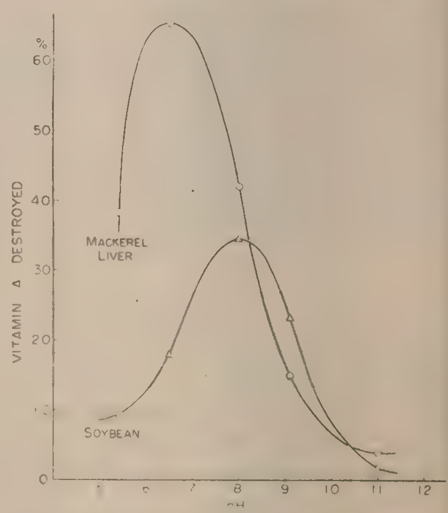


Fig. 1. Effect of temperature on the enzyme activity at pH 5.4.



Fig, 2. Effect of pH on the enzyme activity. The reaction mixtures wese incubated for 20 hours at 37°C.

（2）　pH の影響　Fig. 2 に見られるように，サバ肝臓酵素の至適 pH は 6.5 附近，大豆のそれは pH 8.0 附近に見られた。

ビタミンA含量の少い魚類肝臓の酵素活力　ビタミンA含量が皆無に近いスズキ *Lateorabrax japonicus* の肝臓の酵素活力を，漁獲直後，乾燥粉末とせずに測定した結果は Fig. 3 に示すように極めて強い活力を認めた。

反応後の油脂の性質　（1）　肝油のビタミンA吸収スペクトル　Fig. 4 に明らかなように，酸化度の小さいものは 328 mμ に吸収のピークを示すが，大豆および肝臓酵素によつて酸化されたものは一般吸収を示し，300 mμ 以下の吸光が増大するように思われた。このような吸収曲線の変化は，ビタミンAの酸化生成物によるかあるいは他の原因によるかは本実験では明らかでない。

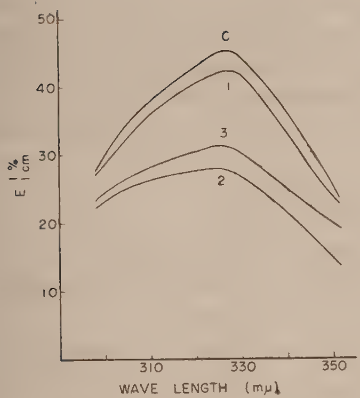


Fig. 3. Enzyme activity of perch liver. 1, emulsion of 27 ml. of mackerel liver extract (coorresponding to 5 g. of liver powder) with 0.4 g. of CMC and 7 g. of tuna liver oil; 2, 14 ml. of mackerel liver extract and 13 ml. of perch liver extract with snbstrate; 3, 23 ml. of perch liver extract with substrate; C, control.

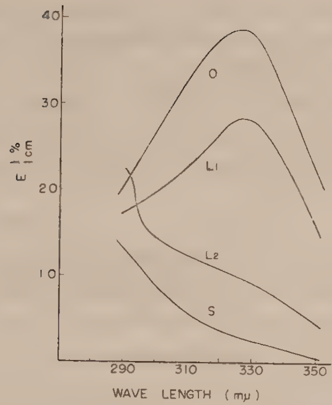


Fig. 4. Absorption spectra of vitamin A in oxidized liver oil. O, original oil: L_1 and L_2, oils oxidized by liver extract; S, oil oxidized by soybean enzyme.

(2) 肝油の性状　肝臓の酵素がビタミンAと同時に脂肪酸を酸化するか否かを知ることは興味あることである。先[1]に述べたように自己消化したサバ肝臓から得た肝油はビタミンAの減少とは逆に，その油脂の性状に何らの変化も示さなかつたが，本実験においても Table 4 および 5 に示すように，特別の変化は認められなかつた。

Table 4. Properties of oxidized liver oil.
(Incubation with liver extract at 37°C.)

Incubation time, hr.	0	2	4	6	10	24
Vitamin A						
Content, C. L. O. U.	257	230	230	210	210	185
Loss, %	0	10.5	10.5	18.3	18.3	28.0
Iodine value	123.0	122.5	123.0	…	…	…
Schiffs test	+	+	+	+	+	+
Kreis test	−	−	−	−	−	−

Table 5. Properties of oxidized oils. * ml. of N/200 $Na_2S_2O_3$.

Enzyme	Incubation time, hr.	Tuna liver oil			Linseed oil		
		Peroxide value*	Iodine value	Acid value	Peroxide value*	Iodine value	Acid value
Mackerel liver	24	6.5	156.8	1.7	1.1	226.1	4.5
	48	6.9	150.5	1.5	0.4	212.8	8.1
Control (pH 6.5)	24	9.2	155.1	0.5	5.3	226.5	0.4
	48	11.8	150.0	0.7	6.6	216.5	0.4
Soybean	24	9.9	156.1	0.8	6.0	211.7	1.9
	48	5.0	155.7	0.9	7.0	209.2	1.5
Control (pH 9.0)	24	7.2	155.1	0.7	10.5	209.8	0.6
	47	8.2	156.3	1.2	9.3	211.1	0.5
Original oil		2.7	156.8	0.4	2.7	226.5	0.5

（3） アマニ油の性状　肝油の脂肪酸が酵素により酸化されないことは，その中に溶存するビタミンAによつて酸化が防止されるためではないかと考え，ビタミンAを含まないアマニ油について同様の実験を行つた。Table 5 に明らかなように，沃素価には全く変化が見られず，酸価が増加しているが，これは粗酵素液中に共存するリパーゼの作用によるものと考えられる。又過酸化物価は Lea[19] の方法によつたが，対照区の方が大きな値を示した。これは反応時間が長かつたためであろう。アマニ油も肝油と同様に肝臓酵素によつて認められる程の酸化を受けないものと思われる。

要　　　約

1. 肝油中のビタミンAは魚類肝臓に含まれる或る種の酸化酵素により甚しく酸化される。

2. 大豆リポキシダーゼおよび魚類肝臓酵素により酸化されたビタミンAの吸収スペクトル曲線は，共に 328 mμ のピークが低下する。

3. ビタミンAを酸化する酵素はサバ肝臓のみでなく，ビタミンAを含まない魚類の肝臓にも多く含まれる。

4. 魚類肝臓のビタミンAを酸化する酵素は水溶性であり，60°C で高い活性を示す。

5. 肝油およびアマニ油の高級脂肪酸はグリセライドの形では，この酵素により殆んど酸化されない。

6. 室温では肝油濃度が高ければ酵素活力が抑えられるが，高温では酵素阻害物質の破壊により酵素活力が大きくなると思われる。

7. 魚類肝臓の酵素は大豆リポキシダーゼに類似の性質を有するが，至適 pH がやゝ異るように思われる。

文　　　献

1) 小野豊樹・永山文男：本誌 **18**, 509 (1953).
2) E. Andre and K. Hou: *Compt. rend.*, **194**, 645: 195, 172 (1932).
3) E. Gosby and J. B. Sumner: *Arch Biochem.* **8**, 259 (1945).
4) H. Theokell, R. T. Holman and Å. Åkeson: *Arch. Biochem.*, **14**, 250 (1947).
5) H. H. Strain: *J. Am. Chem. Soc.*, **63**, 3542 (1641).
6) H. Sullmann: *Helv. Chim. Acta*, **24**, 1360 (1941).
7) C. H. Lea: *J. Soc. Chem. Ind.*, **56**, 376T (1937).
8) A. W. Bosworth and I. B. Brown: *J. Biol. Chem.*, **103**, 115 (1933).
9) C. N. Frey, A. S. Schultz and R. F. Light: *Ind. Eng. Chem.*, **28**, 1254 (1936).
10) S. M. Hauge, W. Aitkenhead: *J. Biol. Chem.*, **93**, 657 (1931).
11) S. M. Hauge: *J. Biol. Chem.*, **108**, 331 (1935).
12) J. W. Wilbur, J. H. Wilton and S. M. Hauge: *J. Dairy Sci.*, **18**, 661 (1935).
13) R. Kuhn and K. Meyer: *Z.* Physiol. Chem., **185**, 193 (1929).
14) F. Haurowitz, P. Swern and M. Yenson: *J. Biol. Chem.*, **140**, 353 (1941).
15) H. N. Brocklesby and N. I. Rogers: *Fish. Res. Bd. Canada, Progress Rep. Pac.*, No 50, 4 (1941); Ind. Memo. No. 6 (1941).
16) A. Banks: *J. Soc. Chem. Ind.*, **56**, 13T (1937).
17) A. Banks: *J. Soc. Chem. Ind.*, **63**, 8 (1944).
18) M. M. R. Khan: *J. Fish. Res Bd. Canada*, **9**, 8 (1952).
19) C. H. Lea: *J. Soc. Chem. Ind.*, **65**, 286 (1946).

魚類組織のリポキシダーゼに関する研究—II. 肝臓および血合肉のリポキシダーゼ作用

小 野 豊 樹・永 山 文 男
(東 京 水 産 大 学)

Studies on the Lipoxidase in Fish Tissues—II. Lipoxidase Action of Liver and Dark Muscle.

Toyoki ONO and Fumio NAGAYAMA

Carotenoids are oxidized secondarily by the peroxide of linoleate which has been formed by the soybean lipoxidase. As for the oxidation of linoleate by animal tissues, there are some investigators postulating that it might be caused by heme compounds in the tissues, while others are of opinion that the lipoxidase action in animal tissue is essential.

Present authours, observing the oxidation of β-catotene by the extracts of liver and dark muscle of fish, found that these tissues oxidize β-carotene in the presence of linoleate. The optimum pH for the reaction was found to be at 6.98 which differs from the optimum pH for the β-carotene-bleaching activity of hemoglobin. As for the optimum temperature, two values were found for liver extract : 14° and 45° C. From this result, it seems likely that the prerent extract contained two components which catalyze the oxidation of β-carotene at different temperatures.

先に著者等[1,2]は，魚類肝臓中に含まれるビタミンAを酸化する酵素は大豆りリポキシダーゼに類似するものであると報告した。

WATTS 等[3]，TAPPEL[4,5] 等は，動物組織の不飽和脂肪酸酸化作用は，リポキシダーゼの如き酵素によるものではなく組織中のヘム化合物に因るものであるとしているが，REISER[6] は豚の脂身について観察し，ヘム以外に脂肪酸を酸化する酵素的因子の存在を認めている。更に KHAN[7] はニシンの血合肉に多量に含まれる脂肪酸酸化酵素を精製し，その酵素が全く鉄を含まず，リノール酸の過酸化物を生ぜしめる点から大豆リポキシダーゼと同様のものであると述べている。この酵素が普通肉に無く血合肉に多いという KHAN の報告は先に BROCKLESBY 等[8] がサケの肝臓にビタミンA酸化酵素の存在を認めたことと併せて，魚の脂質代謝の研究上極めて興味あることである。

リポキシダーゼ作用の測定の一般的方法は，リノール酸の過酸化物による 234 mμ の吸光度の変化を読むものであるが，粗酵素標品では誤差が大きい。簡単な方法としてカロチノイドの二次的な酸化を比色測定する方法[10,11,12,13]がある。本報では β-カロチンの酸化（褪色）法によつてサバの肝臓，ソウダガツオの肝臓および血合肉のリポキシダーゼ作用について観察した結果を告する。

実　　験

試料および方法

（1） 試料　1954 年 7 月沼津港に水揚されたサバ *Scomber japonicus* の肝臓と，同年 8 月沼津沖で著者等が竿釣で漁獲したソウダガツオ *Auxis tapeinosoma* の肝臓および血合肉を擂潰し，冷アセトン 10 容，低沸石油エーテル 3 容で処理し脱脂乾燥粉末（mesh 150）として −25°C に保管した。

（2） 酵素液　肝臓粉末は M/15 燐酸塩緩衝液 5 容，血合肉は 3 容で抽出し，遠心分離して得る上澄を用いた。

1957 年 5 月 27 日受理

（3） 試薬

（a） カロチン溶液　結晶 β-カロチン 10～15 mg をアセトンに溶かし 100 ml とする。

（b） リノール酸溶液　アマニ油から常法により得たりリノール酸メチルエステル 5 g をアセトンに溶かし 25 ml とする。

（c） 醋酸鉛溶液　塩基性醋酸鉛の 20 %水溶液。

（4） 方法　20 ml の共栓試験管に M/15 燐酸緩衝液 1 ml, (b) 液 0.1 ml, (a) 液 0.1 ml を入れ酵素液 1 ml を加え振盪しながら一定時間反応せしめた後 (c) 液 0.3 ml, アセトン 10 ml を加えて激しく振盪してから遠心分離 (3,000 rpm, 5 分) して，上澄液の β-カロチン量を比色計により測定する。対照試験はクロチンの比色法[13] に準じて，(c) 液とアセトンを加えた後酵素液を加える方法を採つた。

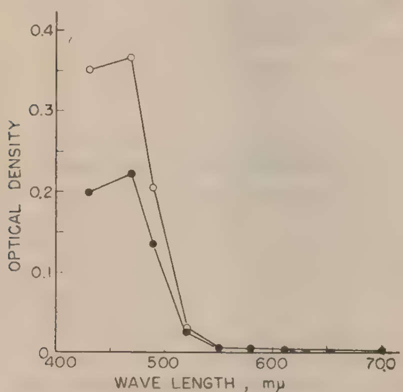


Fig. 1. Extinction coefficient at various wave lengths of aceton solution of β-carotene. ○, 0.246 mg. %; ●, 0.149 mg. %. Cuvett, 15 mm. depth.

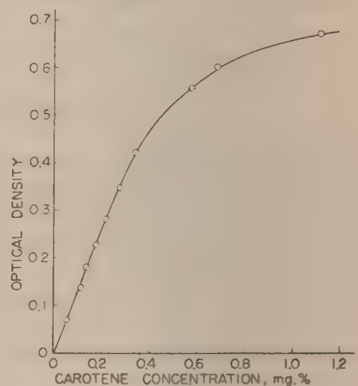


Fig. 2. Relationship between extinction coefficient and concentration of β-carotene at 470 mμ.

Hilger Biochem 型比色計を用いて，β-カロチンのアセトン溶液の吸光度を測定した結果は Fig. 1 に示したように，470 mμ のフィルターで最大吸光がみられ，この波長でのカロチン濃度 (y γ/ml) と吸光度 (x) との関係は x<0.4 において y=6.72 x であつた。(Fig. 2) 尚比色管は比色計所属の径 15 mm のものを用いた。

結果及び考察

Fig. 3 にみられるように β-カロチンの酸化反応はソウダガツオの血合肉および肝臓酵素液では極めて急速に行われ 10 分後に反応が平衡に達したが，サバ肝臓酵素液では反応が緩慢で 60 分後もなお平衡に達しなかつた。しかし，こゝに用いたサバは市場から購入したものであるので，漁獲後或程度時間を経過したものであり，一方ソウダガツオは漁獲と同時に船上でアセトン処理を行つたため，両者の鮮度差はかなり大きいとみてよい。従つてこの測定結果に現われたサバとソウダガツオの酵素活力の差は単に魚種の相違によるものでなく，酵素源の鮮度の影響もあると思われる。酵素源として普通の市財のサバを用いると更に低い活力の酵素液しか得られないので，試料は出来るだけ鮮度のよいものを選ぶ必要がある。Fig. 3 の実験は恒温槽を用いず室温 (26～30°C) で行つたのであるが温度差の影響は僅少と考えた。尚，リノール酸溶液を添加しない場合はカロチンの脱色は全く行われなかつた。

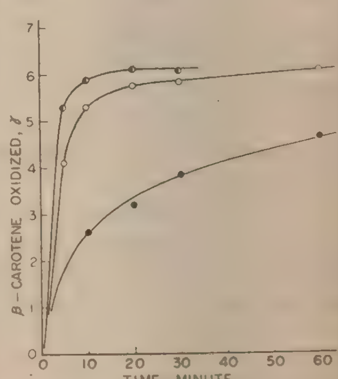


Fig. 3. β-Carotene oxidizing activities of the livers of pacific mackerel (●) and frigate mackerel (○), and of the dark muacle of frigate mackerel (◐). Reaction mixtures were incubated at room temperature (26°−30°C.). pH 6.98. Amount of β-carotene oxidized by 1 ml. of an enzyme solution is expressed in γ.

（1） pH の影響　M/15 燐酸緩衝液により種々の pH (5.59～8.04) について酵素活力を測定した結果，Fig. 4 に示したように，サバ，ソウダガツオいずれの組織より得た酵素液も pH 6.98 において最も強い活力が認められ，それよりも酸性側ではアルカリ側よりも活力がやゝ小さい。こゝで得られた至適 pH の

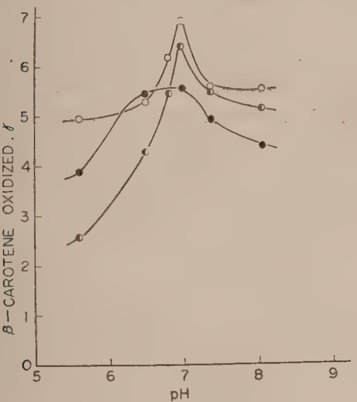


Fig. 4. Effect of pH on β-carotene oxidizing activities of the livers of pacific mackerel and frigate mackerel, and of the dark muscle of frigate mackerel. Reaction mixtures were incubated for 10 minutes at room temperature. Indications are same with Fig. 3.

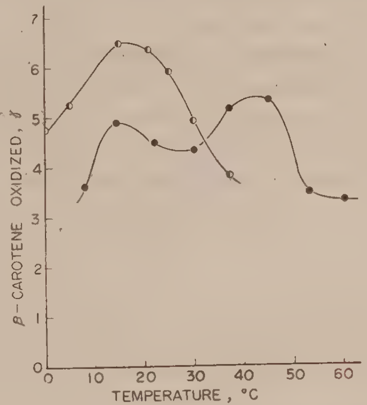


Fig. 5. Effect of temperature on β-carotene oxidizing activities of the liver of pacific mackerel and the dark muscle of frigate mackerel. Reaction mixtures were incubated for 10 minutes at room temperature, pH 6.98.

値は，ヘモグロビンのカロチン脱色作用[6]に関して得られた値 pH 5.5 とは明かに異るものであるが，豚の脂身[6]についての値 pH 5～7 とも完全に一致はしていない。

（2） 温度の影響　サバ肝臓とソウダガツオ血合肉の各温度における酵素活力は Fig. 5 に示したように 15°C 附近（ソウダガツオでは 15°C，サバ肝臓では 14°C）で両者共活力が大きいが，サバ肝臓では 14°C の他に更に 45°C でも大きな活力を現わした。サバ肝臓についてみられるこのような温度に関する特性は，この酵素液の組成が単一でなく，14°C の他に 45°C の如き高温で賦活されるような酵素又は酵素類似の物質を含むためであろうと考えられるが，このことを明かにするためには純度の高い標品を調製して観察せねばならない。又ヘム化合物および脂肪酸と魚類組織のリポキシダーゼ作用との関連性についても現在観察を続行中である。

要　約

1. 魚類の肝臓および血合肉の抽出液はリノール酸の共存下に β-カロチンを急速に酸化する。

2. 魚類の肝臓および血合肉の抽出液が β-カロチンを酸化する至適 pH は 6.98 であり，ヘモグロビンの作用とは異るものと考えられる。

3. 至適温度はソウダガツオ血合肉では 15°C であるが，サバ肝臓では 14° および 45°C の二点であり酵素液組成が単一のものでないと思われる。

文　献

1) 小野豊樹・須田正雄・永山文男：本誌，**18**，509 (1953).
2) 小野豊樹・永山文男：本誌，**23**，206 (1957).
3) B. M. Watts and Da Hwei Peng：*J. Biol. Chem.*，**170**，441 (1947).
4) A. L. Tappel：*Food Res.*，**17**，550 (1952).

5) A. L. Tappel : *ibid.*, **18**, 104 (1953).
6) R. J. Reiser : *Am. Oil Chem. Soc.*, **26**, 116 (1949).
7) M. M. R. Khan : *J5 Fish. Res. Bd. Canada*, **9**, 393 (1952).
8) H. N. Brocklesby and N. I. Rogers : *Fish. Res. Bd. Canada, Prog. Rep. Pac.*, 50, 4 (1941) ; Ind. Memo. No. 6 (1941).
9) H. Theorell, S. Bergstrom and Å. Åkeson : *Pharm. Acta Helv.*, **21**, 318 (1946).
10) R. Reiser and G. S. Fraps : *J. Assoc. Off. Agr. Chemists*, **26**, 186 (1943).
11) A. K. Balls, B. Axelrod and M. W. Kies : *J. Biol. Chem.*, **149**. 491 (1943).
12) G. N. Smith and J. B. Sumner : *Arch. Biochem.*, **17**, 75 (1948).
13) 福場博保 : 日農化誌, **25**, 483 (1952).

浜名湖における貝毒化の原因について
第1報 貝の人工的毒化の試み*

右田正男・神名孝一
（東海区水産研究所）

On the Source of Shell-Fish Poison at the Lake HAMANA
I. Attempts at Experimentally Rendering Shell-Fish Toxic

Masao MIGITA and Kōichi KANNA

Regarding causes of yearly appearance of poisonous shell-fish at the Lake Hamana, an assumption proposed by NOGUCHI is that some harmful substances formed at the bottom layer of the central area of the lake in summer might rise to the surface by convection of water in autumn and flow down to the mouth of the lake to be incidentally taken by shell-fish.

This assumption can succesfully explain the reason why appearance of poisonous shell-fish is restricted to the areas along the water-routes (cf. Fig. 1), as well as to winter and early spring.

Another fact which likely supports the assumption is this. In summer water exchange by vertical mixing at the central area of the lake is so small that oxygen becomes deficient already at a depth of 6 m. and absent below 8 m.

If the assumption is correct, (1) It might be possible to render experimentally shell-fish poisonous by transplanting them to the central part of the lake, and (2) There may exist any coincidence between the result of the transplantation in autumn and appearance of toxic shell-fish at the southern area in the following season.

It is also important to know whether the shell-fish can take in poison from the surrounding water.

Results

1. Oyster transplanted at the lake center in autumn 1951 was found poisonous when recovered, while another group of the shell-fish kept for the same period in another part (station F in Fig. 1) of the lake was not. From January to March 1952 high toxicity was detected in shell-fish sampled at the mouth of the lake (Table 1). Out of four experiments two cases showed the parallelism between the result of the transplantation and the subsequent occurrence of the poisonous shell-fish as expected.

Toxicity of shell-fish in the mouth of the lake seems, however, to depend largly on hydrographical conditions of this area which in turn seem to be determined by the width of Imakiri Channel (Fig. 1 Station A). It must be born in mind, therefore, that if one fails to detect the toxic shell-fish in winter, transplantation experiments carried out in the previous autumn may not always provide a reliable criterion to the assumption.

2. In order to know whether the toxic substance is adsorbed on the bottom mud of the central area, short-neck clam was kept in a pot containing the mud for about two weeks, but they did not become poisonous (Table 2). No definite conclusion, however, can be drawn from this experiment because no toxicity was detected in the southern part in the following poison season.

3. Short-neck clam was kept in sea water containing shell-fish poison (Venerupin), the poison added into sea water was neither detected in the liver of the shell-fish, nor could be recovered from the water (Table 3). Decomposition of the poison by bacteria cannot explain the phenomenon,

1957年6月10日受理
東海区水産研究所業績B第226号

since no poison could as well be recovered, even immediately after being added, from sea water. It seems that the poison may undergo such a change as to lose the activity during isolation from sea water.

緒　　言

浜名湖には昭和 17 年以来，年によつて消長はあるが，殆ど毎年カキ，アサリの毒化がみられている。毒は専ら貝の肝臓中に見出され，毒貝の発生する時期は 12 月から大体3月迄，場所（Fig.1 参照）は湖口部のミオ筋に沿つた新場，八兵衛瀬，碇瀬に限られるという特徴がある。

この毒の由来については，不良な環境におかれた貝の生理的乃至病理的生産物であるのか，海水中から吸収蓄積された外来物質であるのかも未だはつきりしていない。野口は浜名湖の特異な地勢及び海況と貝毒発生条件の特徴とを考えあわせ，湖央部（Fig. 1 G）が毒源地ではないかという説を出した[1]。即ち夏期，水の停滞期に湖央部の下層で生産蓄積された「毒物」が，10，11 月の水の循環期に入り上下層の水の混合が始まると上昇し，秋より冬にかけて徐々にミオに沿つて南下し来り，貝に吸収蓄積されるのではないかと推察した。

この説に対し平野[2] は浜名湖分場で観測された水温，塩素量の資料に基き浜名湖の水の循環置換量を推定し，「1951 年に比べ 1952 年には湖央部の夏期成層状態が悪く，8月に相当の循環置換が起つている。それにもかゝわらず 1953 年初めの貝毒発生量が 1952 年のそれに比べて大なることはうなずけない」として，野口の湖央部毒源説に反対している。しかし貝毒の発生量は決して前年の夏期の成層状態の良否のみできまるものでないことは，浜名湖の湖口部の変化の烈しい地形から考えて，当然予期しうるところであり，またそう解釈すべき事実も多い。例えば湖口部における貝毒の消長と今切口（Fig. 1 A）の幅の変化との間には関係があるように思われる（Table 1 第7及び8欄参照）。

また平野は浜名湖の水の循環をあまり平均的に考えすぎているが，実際にはもう少し細く取扱う必要があるのではないか，例えば 1952 年の8月はたしかに成層状態が悪かつたが，7月，9月には 1951 年に劣らぬ酸素欠乏状態を底部は示している。従つて平野の反論だけで湖央部毒源説を否定することはできない。

われわれは野口の説をなお検討に値するものと信じ，その当否を判断しうるような実験的裏付けを得たいと考えた。

湖央部毒源説には2つの大きな仮定が含まれている。

（1） 貝毒又はその母体が成層期に湖央部で生産され，循環期に湖口部に流入する。

（2） カキ，アサリは海水中からその貝毒又は母体を吸収し，肝臓に貝毒を蓄積する。

仮定（1）が真ならば貝を湖央部に垂下飼育することにより湖口部には全く貝毒の見られない夏，秋の候にこれを毒化しうる可能性もあり，また湖央部における垂下試験の結果と翌年初めの湖口部における貝毒の出現との間には正の相関関係があつてもいゝ筈である。

なお水底の浮泥は吸着性に富んでおり，一方アサリ毒は吸着されやすい性質をもつている。従つてもし湖央部の底部で「毒物」が生成されるならば，底土は多量の毒物を吸着している可能性が大きい。この点を明かにするために底土エキスの毒性を直接しらべたり，また底土を用いてアサリを飼育しこれを毒化しうるか否かをしらべることが考えられる。

仮定（2）は湖央部毒源説の立場から，貝の肝に毒の蓄積される機作に一つの説明を与えるものであるが，松江[3] によると毒物はその種類により，また貝の種類によつても貝の肝に蓄積されるものと，され難いものとある。従つて海水中に加えられたアサリ毒が果して貝に吸収蓄積されるか否かを確めることは，湖央部毒源説の性格をはつきりとさせるために必要である。

このような考に基いて次のような実験を行つた。

Ⅰ．湖央部におけるカキの垂下飼育

現地の野口，角皆両氏の協力をえて 1951 年から4年続けて行つた。

Ⅱ．湖央部底土の毒性検定

アサリ毒の直接検出及び底土を用いたアサリの飼育試験

但しアサリ毒を底土中に直接検出することは，エキス中に多量の塩分が入り来り，動物試験にさしつかえ

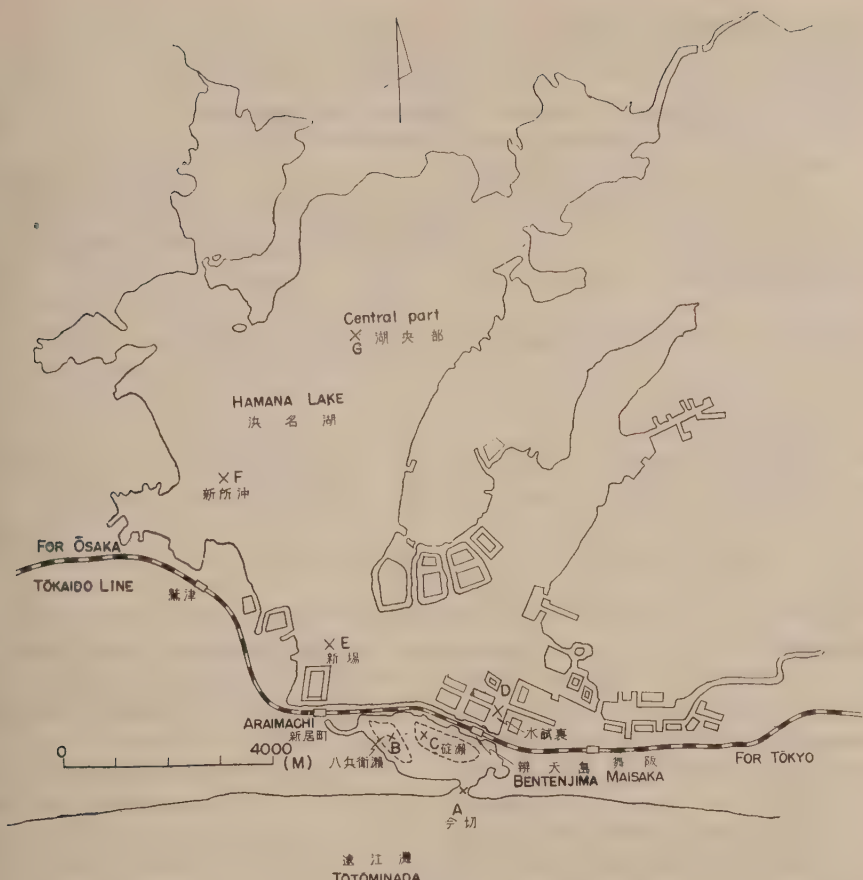


Fig. 1. Hamana Lake.

A–Imakiri. B–Hachibeise*. C–Ikarise*. D–The back of Shizuoka Fisheries Experimental Station. E–Shinba*. F–Off the coast Shinjo. G–Central part of the lake.
*…The areas where poisonous shell-fish has been found.

のない程度までこれを除こうとすると毒の著しい損失が作うため不可能であつた。毒の直接証明の代りに底土エキスを添加した海水を用いて飼育試験を行うことも考えられるが，アサリ毒又はエキス中の毒物が海水中から貝に吸収蓄積されるか否かゞ先決問題である。

Ⅱ. アサリ毒を添加した海水中におけるアサリの飼育

実　　　験

〔Ⅰ〕 湖央部におけるカキの垂下飼育試験

実験方法　浜名湖分場に依頼し，カキを金網籠に入れ，湖央部の底土上又はその近くの深さに吊し，7～20日間飼育し，常法[4]により肝臓中のアサリ毒をしらべた。なお同時に湖央部以外のミオ筋に沿つた場所(新所沖，新場等）及び水試裏で同様な飼育を行つたものを対照とした。

試験時期　湖口部の養殖地帯の貝には未だ毒が認められず，湖央部では底部で生じた有機物の分解生産物が上昇しようとする秋期をえらんだ。夏期は垂下中カキの死亡が特に多いので適当でない。

垂下水深　大部分の実験ではカキを入れた籠を湖央部の底土の上に置いたが，飼育中の死亡率が大きく

充分な期間——従来無毒の貝を毒化地帯に移植し，これを毒化させるには15～20日を必要とされている——飼育できないことが多いので，1954 年には水面下 6，8，10 m の各層に垂下飼育した。

Table 1. Experimental production of poisonous oyster by culturing it at the central part of the lake

Year	Date From	Date To	Period of culture (Days)	Culturing depth (m.)	Formation and potency of poison in the liver	Mortality of the shell-fish (Killed/Initial)	Occurrence of toxic shell-fish in the next year; Max. toxicity	Width of the channel at Imakiri (m.)
					M.U.*		M.U.*	
1951	10/23	11/12	20	11	+, 2≪4	8/30	+, 20	120 (1951)
1952	7/28	8/6	9	(On the bottom)	−, <2	20/24	+, 100	100 (1952)
	9/22	10/15	23	〃	−, <2	24/30		
1953	10/23	10/30	7	〃	−, <2	9/30	+, 4	750 (Dec., 1953)
	10/30	11/30	10	〃	−, <2	15/30		
	11/10	11/30	20	〃	−, <2	12/30		
1954	10/14	11/1	18	6	−, <1	5/60	−, <1	550～600 (Oct., 1954)
				10	−, <1	5/60		
	11/1	11/18	17	8	−, <1	14/63		
				10	−, <1	7/69		

* Number of mice killed by poison contained in 1 g. of liver.

結果及び考察　Table 1 に示すように 1951 年から 54 年まで毎年飼育を試みたが，毒化が明かに認められたのは 51 年のみであつた。検出された毒はマウスの中毒症状，肝の病変等からアサリ毒であることに間違いなく，同時に新所沖水深 5 m に垂下したものは，カキの死亡率 10％，毒化は認められなかつた。且つ 1952 年の初めには強い毒が湖口部の貝に認められている。

このように唯一回ではあるが，湖央部での垂下飼育によつてカキを確実に毒化しえたことは湖央部毒源説と切り離しても興味のあることで，このような事実を更に確めるため，今後くりかえし実験する価値があろう。

しかし垂下試験の結果が，湖央部毒源説の裏付けとして役立つか否かは，人工的に貝を毒化しえたか否かではなく，湖央部における垂下試験の結果と，その翌年はじめの湖口部における貝毒発生の有無とが一致するか否かである。Table 1（第 5 及び第 7 欄）によると両者が一致しているのは，51 年と 54 年，一致していないのは 52 年と 53 年の実験である。但しここに注意すべきは，55年には湖口部に貝毒が検出されていないことである。前にものべたように湖口部の貝養殖地帯で検出される貝毒の量の多少は湖口部における潮流の状況によるところが多いように思われる（例えば Table 1 第 7 及び 8 欄参照）。従つて冬期湖口部で貝毒の検出されなかつたということは，事実どこにも毒はなかつたということか，またはどこかで毒は出来たのであるが，潮流の変化のため，養殖地帯にまで検出しうるほど流れてこなかつたというにすぎないのか断定し難い。今切口のかなり拡がつた 55 年の初めは特にそうである。

即ち 54 年の垂下試験において貝の人工毒化のみられなかつたことと，55 年初め湖口部で貝毒の検出されなかつたことの間に正の相関ありと強く断定することはできない。また 52 年の試験では，垂下飼育中の貝の死亡率（Table 1 第 6 欄）が極めて大きいから，その結果は力強い正当な証拠とはなりえない。従つて 54 年と 52 年の試験を省いても結果は 1：1 となり，決定は今後繰返す予定である実験にまたねばならない。

〔Ⅱ〕 湖央部底土を用いたアサリ飼育試験

51 年 9 月 1 日（湖央部の水はなお成層期である）及び 11 月 8 日（循環期である）採集日乾した湖央部の底土 500 g をガラス水槽に入れ，新田川の汽水 5 l を加え，空気を送りながら実験室内でアサリを飼育した。

結果は Table 2 に示すように，いずれも 1 MU で毒化は認められなかつた。但し翌 55 年の初め及び早春湖口部で貝毒が検出されていない。従つて前述の理由により，この結果から湖央部毒源説を論議することはあまり意味がない。かつアサリを毒化させるのに 500 g の底土で充分か否かも吟味の必要があろう。

Table 2. Culture of short-neck clam in a basin containing the bottom mud from the central part of the lake

Date of sampling	Period of culture (Days)	Vol. of sea water (*l.*)	Dried mud from the center of the lake (g.)	Water temp. (°C.)	pH	Cl ‰	Mortality of the shell fish (Killed / Initial)	Venerupin found in liver (M.U./g.)
9. 1, 1954	12 (11. 10～11. 22, '54)	5	500	12～16	7.2～7.8	17.61	2/24	＜1

〔Ⅲ〕 **アサリ毒を加えた海水中におけるアサリの飼育試験**

実験方法　アサリ毒を加えた海水を入れた水槽中で，次のような条件の下に一定期間アサリを飼育し，肝をとり，常法によつて処理し，生物試験を行つた。

（1） 水槽中の海水は毎日数回攪拌するだけで，期間中とりかえない。(使用海水 10 *l*, 全アサリ毒200MU)

（2） アサリ毒を加えた海水を毎日新しいものとかえる。

（A） 海水 4 *l*,　毒量 40 MU

（B） 同　上　20 MU

（3） 海水の量を少くし，毒の濃度を高くする。(使用海水 1 *l*, 全毒量 200 MU)

海水はとりかえず，その代りたえず空気を吹込む。使用海水の量を少くしたのは次のような理由によるものである。

（i） アサリを飼育する際には多量の海水を用いるよりも，殻が八分目浸る程度の量がよいとされている*。

（ii） 海水中の毒の濃度を高めることによつて貝えの吸収を促しうるかも知れない。

（iii） 飼育終了後海水中に残つている毒を定量する際都合がいゝ。

その他の実験条件は Table 3 参照。

結果及び考察　結果は Table 3 に示すように何れも否定的であつた。1 cc 中 0.01 MU のアサリ毒をふくむ 4 *l* の海水を毎日新たにした場合（実験 2 A）でも 同じであるから飼育期間中にアサリ毒が分解するためではない。飼育期間も実験 3 では充分とつてあり，途中で死んだ貝もなく最後まで貝は特に不適な棲息条件にあつたとも思えない。

Table 3. Culture of short-neck clam in sea water containing "Venerupin"

No.	Period of culture (Days)	Vol. of sea water (*l.*)	Venerupin added (M.U.)	Venerupin in sea water (M.U./cc.)	Water temp. (°C.)	Mortality of the shell-fish (Killed / Initial)	Venerupin found in liver (M.U./g.)	Remarks
1	7 (5. 24～5. 31, '54)	10	200	0.02	16～21	0/40	＜1	Sea water was not renewed.
2 A	10 (7. 5～7. 15, '54)	4	40	0.01	21～25	14/60	＜1	Sea water was renewed every day.
2 B		4	20	0.005		6/60	＜1	
3	20 (1. 21～2. 10, '55)	1	100	0.1	7～12	0/25	＜1*	Sea water was aerated but not renewed.

* Poison could be found neither in the filtrate nor in the residue from filtration of sea water.

即ちアサリは少なくともそのまゝの形で海水中にとけているアサリ毒を吸収蓄積しないと結論せざるを得ない。そこで若し湖央部毒源説を尚支持するとすれば，湖央部で出来るものはアサリ毒そのものではなく，アサリ毒の母体であつて，そのものがアサリに吸収され肝臓中でアサリ毒に変ずるものと考えるか，または アサリやカキに吸収蓄積されるアサリ毒は，海水中に溶けているものではなく，貝の餌料となる微生物中に存在するかまたは吸着されているものと考えなければならない。これに関し興味のあるのは，カリフォルニアのイガイ (*Mytilus californianus*) のマヒ性毒の由来について 1937 年 Sommer[5] 等は，貝の餌料中に多量見出される *Gonyaulax catenella* がその主な源であろうと主張したが，事実 1947 年に Riegel, Somm-

* 東海区水産研究所猪野俊，内海区水産研究所古川厚の両氏の教示による。

ER 等[11] によつて *Gonyaulax catenella* を多量にふくむプランクトンから 1.65 MU/γ という現在知られている最強のマヒ性毒がとり出されたことである。

そこで微粒子に吸着させて径口的にアサリ毒を摂取させようと考え，卵黄・墨汁* 等にアサリ毒を加えたものを，アサリの水管近くに入れるようにしてみたが，充分量の微粒子を摂取させることはできなかつた。

〔IV〕 **海水中よりアサリ毒の回収**

実験IIIにみられるように，海水中に加えたアサリ毒がアサリによつて吸収されないとすると，毒はそのまま海水中に残つているか，試験期間中に分解してしまつたか，或は一部分解し一部残つている筈である。そこで実験IIIの (3) 終了後，水槽中の海水を濾し，海水及び残渣中のアサリ毒の定量を試みた。

予備実験—Mg の除去

海水中からアサリ毒を回収し，その毒力を検定する際には，毒性のつよい Mg（マウスに対する致死量 Mg として 2.4 mg）を除かねばならない。炭酸塩として Mg を除く方法は，同時にアサリ毒を沈澱と共に除去してしまうから用いられない。そこで Amberlite IR-120 による Mg の除去，及び アサリ毒の回収率を繰返ししらべ次のような結果をえた。

i) 10 cc の IR-120 で海水 100 cc 中の Mg (0.13 g) が完全に除かれる。

ii) IR-120 処理によりアサリ毒は6割失われる。この損失はきわめて大きいが，幸この損失率は用いた IR-120 の量（10～50 cc）及びはじめ海水中に加えたアサリ毒の量（20 及び 40 MU）に関せず一定であるから，実験の精度の悪いことを忍べば使えないことはない。海水を IR-120 に通すと，液は酸性（pH1.2）となり，これがアサリ毒の損失に多少関係があるのではないかという心配もある。IR-120 に予め食塩溶液を通した後海水を通すと，液は微酸性（pH 4.8）に止まる。しかしこの食塩処理によつてもアサリ毒の回収率は改善されぬのみか，Mg の吸着がわるくなるようである。

海水及び残渣の処理

(a) 濾過海水 200 cc を減圧濃縮し大体の塩類を除去後 Amberlite IR-120 で Mg を除き，苛性カリで pH 6.2 となし濃縮，メタノールで抽出，メタノールを溜去し，シラップを蒸溜水にて 2 cc とする。

(b) 海水の濾過残渣 1.5 g をメタノールで抽出，メタノールを除き，エーテル処理後シラップを蒸溜水で 2 cc とした。何れも滅菌後生物試験を行つた。

結果及び考察 Table 3 の 3 に示すように，加えたアサリ毒はアサリに吸収蓄積もされず，海水の濾過残渣に吸着されてもおらず，また海水中に残つている模様もない。

海水中に毒の認められないのは Amberlite IR-120 処理のみのためではない。何故ならば調製注射液 1 cc は供試海水 100 cc に相当するから，もし加えた毒が全部海水中に残つているなら 10 MU のアサリ毒をふくんでおり，Amberlite IR-120 処理による毒の損失をさしひいても，なお 4 MU の毒が検出されねばならぬからである。従つて加えたアサリ毒は飼育期間中に変質してしまつたのかも知れないし，また海水中から抽出するさいに失われたのかも知れない。

そこで蒸溜水，稀薄海水（1/10 容の海水をふくむ水），人工海水（pH 8.2），隅田川の汽水（pH 8.1 Cl＝15.48‰）にアサリ毒 10 MU を加え直ちに上記の処理方法（蒸溜水及び稀薄海水の場合は Amberlite IR-120 処理を行わず）に従つてアサリ毒の回収を行つたところ，蒸溜水及び稀薄海水の場合は加えた全毒が回収されたが人工海水，汽水の場合には全く回収されなかつた。（Amberlite IR-120 処理はしてあるが少くとも注射液中 4 MU/cc の毒は存在する筈である）。

従つて上記の実験において，飼育試験後，たとえアサリ毒が海水中に残つていても海水から分離する間に失われることは疑ない。蒸溜水及び稀薄海水の場合は毒の損失がないところから，海水から毒を濃縮していく間に，多量析出する無機塩に吸着されてか，あるいは何等かの変化をうけて失われるものと考えざるをえない。

摘　　要

浜名湖ではほぼ年々見られる貝毒化の原因について，湖央部の底部で夏期有機物の嫌気的分解が行われ，そ

---

* 内海区水産研究所古川厚氏の教示による。

の生産物が，秋の循環期に表層に出てミオに入り，冬期湖口部に来り，そこの養殖地帯のアサリ，カキの肝に吸収蓄積されるのではないかという説がある。この説を裏付ける実験的事実をえたいと考え，次のような方法によつて人工的に貝を毒化しうるか否かを試みた。

I．秋期湖央部の底部におけるカキの垂下飼育

II．湖央部の底土を用いるアサリの飼育

III．アサリ毒を加えた海水中におけるアサリの飼育

結　果

1．1951 年から 1954 年に亘り毎年行つた垂下飼育では 1951 年に人工的毒化がみられた。秋期湖央部における垂下飼育の結果と，翌年初めの湖口部における貝毒の発生と，一致した場合としない場合の比率は 1：1 であつた。

2．アサリは海水中に加えたアサリ毒を吸収蓄積しない。

3．海水中に加えられたアサリ毒を回収することはできない。

終りにこの研究に種々御協力を頂いた静岡県水産試験場浜名湖分場野口博場長，角皆英明技師その他場員の方々及び実験を手伝つて下さつた小淵真澄，押見とめの諸氏に深甚なる謝意を表す。なお本研究費の一部は文部省科学研究費によつたものである。

文　　献

1) 野口博，角皆英明：静岡県水産試験場業績報告　昭和 25，26 年度 309 (1953).

2) 平野敏行：本誌，**20**，783～792 (1955).

3) 松江吉行：アサリ及びカキ中毒の研究（文部省科学研究費課題，昭和 25 年度報告書）53，(1950).

4) 秋葉朝一郎：日新医，**36**，5 (1949).

5) SOMMER, H. *et al.*: *Arch. Path.*, **24**, 237—559 (1937).

6) RIEGEL, B. *et al.*: *T. Biol. Chem.*, **177**, 7～11 (1949).

血合筋肉の化学的研究—VII. 血合ミオグロビン及び血液ヘモグロビンの電気泳動的性質*

松浦文雄・橋本周久
（東京大学農学部）

Chemical Studies on the Red Muscle ("Chiai") of Fishes—VII. Electrophoretic Characteristics of Red Muscle Myoglobin and Blood Hemoglobin

Fumio MATSUURA and Kanehisa HASHIMOTO

Metmyoglobin (MMb), prepared from the red muscle of tuna, *Parathunnus sibi*, after SCHMID[6], was analyzed electrophoretically by means of the TISELIUS apparatus and it was found that this preparation was not homogeneous except for around the isoelectric point (Fig. 1) : in addition to the main component a minute one was discerned, the mobility of which differed from that of tuna methemoglobin (MHb) at any pH (Table 1) and was removed unsuccessfully by repeating recrystallization. Horse heart MMb, tested for reference, behaved in the same way at pH 6.0 (Fig. 2 and Table 1). It is uncertain at present whether this minute or small component is the secondary product from Mb or not.

Similarly in cases of MHb's of tuna and horse, were observed plural components, the relative amounts of which were, however, fairly close in contrast with the cases of MMb's.

The electrophoretic mobility of tuna MMb is very small at least in the pH region covered in this experiment : e.g., in the phosphate buffer (containing 0.05 M NaCl, $\Gamma/2$ 0.15, pH 7.3) the mobility of tuna MMb is about one half of horse's, one seventh of carp's[8], and one fifth of turtle's[9].

The isoelectric point of tuna MMb was observed at pH 6.8, which agrees with HUYS, finding[11] while that of tuna MHb at pH 5.8 (Fig. 3).

著者らは先にマグロ血合肉から調製した筋肉色素ミオグロビン（以下 Mb と略）の結晶につき種々の誘導体のスペクトル的性質[1]，濃厚燐酸塩溶液中の溶解度[2]，及び熱凝固性[3] 等を同血液ヘモグロビン（以下 Hb と略）と比較して報じた。これらの研究に用いた Mb 標品は再結晶を数回繰返したものでその Fe 量[1] は他種 Mb 乃至 Hb についての値 (0.34 %前後)[4] に略々一致しており，又熱凝固測定の際 Hb の凝固の完了する加熱条件で Mb は全く凝固せず，これらの事実から本 Mb は筋肉蛋白 [illegible] Hb を [illegible] ないことを思わせる。更に溶解度法で純度を検した結果も同様であった[2]。然し電気泳動法は [illegible] 定の標準手段の一つであり之によってマグロ Mb 標品を分析することが望ましい。他の [illegible] 做されるような蛋白でも電気泳動的には単一ではない例が往々にしてある。例えば [illegible] Mb[5] も [illegible] で，等電点付近を除く pH では 2～3 の成分に分れることが報告されている。そこで [illegible] Mb と [illegible] 様の方法で調製したマグロ Mb がこの点如何に挙動するかは興味のあるところである。[illegible] 動からみたマグロ Mb の特性をも明かにしたいと考え本 Mb 並びに同 Hb, [illegible] Mb, H [illegible] 標品を用いて以下の電気泳動試験を行つた。

1957 年 6 月 11 日受理

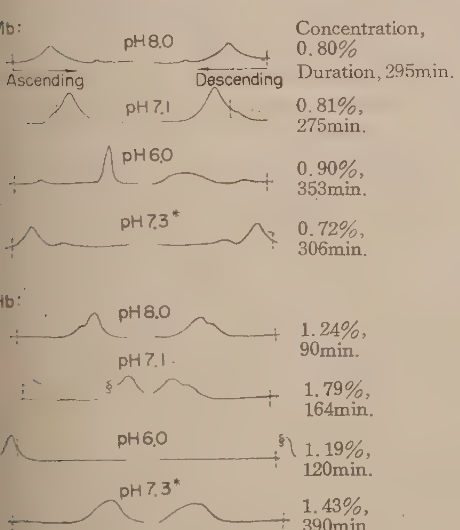
* 本報告の大要は昭和 31 年 4 月 6 日日本水産学会年会にて講演した。

実　験　の　部

Mb 及び Hb 標品：　Mb の材料としてはメバチ深部血合肉と比較のため馬の心筋とを用い SCHMID[6]の法に略々準じて Mb 結晶を調製し，メバチでは3回，馬では5回夫々結晶化を繰返した。尚メバチの方初回の結晶をも供試し比較した。Hb はメバチでは血液試料が充分に得られないため洗滌血球の hemoly-se を，また馬では結晶化1回のものを用いた。尚一，二の例外を除いては標品調製後1ケ月以内に電気泳を行つた。色素蛋白はその誘導形態によつても等電点に多少の相違がある[7]とされているので泳動中他の態に変ずる恐れのないように凡て met 形で試験を行つた。即ち Mb は調製中自動酸化したものをそのま，又 Hb は微量の赤血塩によつて酸化し met 形としたものを何れも下記の buffer に対し2晩以上低温透析後，その間に生成した沈澱を除去してそのまゝ電気泳動に付した。尚マグロ Hb のみは不安定で透析相当量の沈澱を生じ殊に pH 6，又はそれ以下の時著しかつたがその他のものではこの沈澱は微量であつ。

Buffer：　$\Gamma/2$ 0.1 の phosphate buffer (NaH_2PO_4 と Na_2HPO_4 とより成る）を用い，pH（25°C に測定）は 8.0，7.1，6.0 とした。この外文献[8,9]の数値との比較に便ならしめるよう NaCl 含有のosphate buffer ($\Gamma/2$ 0.15，NaCl 0.05 M，pH 7.3）をも併用した。

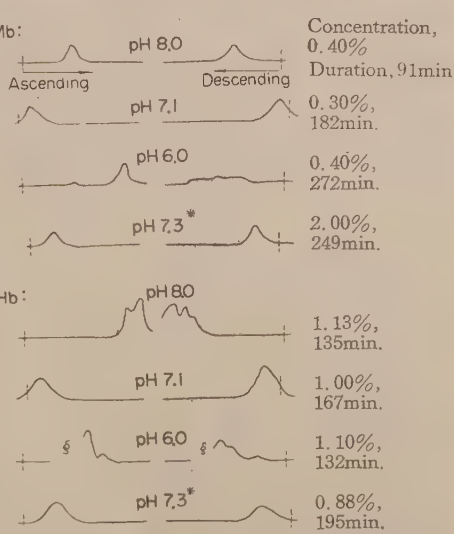
電気泳動装置その他：電気泳動装置は日立製 TISELIUS 装置D型を使用した。泳動用セルは幅 1.5 mm，行 12 mm，高さ 40 mm，容量約 1.3 ml である。泳動は終始 7 mA の定電流で行い，恒温槽の温度は~4°C に保つた。泳動時間は易動度の大きい場合はセルの他端に達するまでとし，また小さい場合は拡散



* Phosphate buffer of $\Gamma/2$ 0.15, containing 0.05 M NaCl.
§ Dark and no pattern seen.

Fig. 1. Electrophoretic patterns of MMb (thrice crystallized) and MHb (hemolyzate) of tuna (*Parathunnus sibi*, in phosphate buffers of $\Gamma/2$ 0.1 (unless otherwise noted).

Dotted lines show the initial boundary positions.
Polarity : at pH 8.0, 7.1 and 7.3 the buffer side is positive and at pH 6.0 reverse.
Field strength : 12.8 volt/cm. at pH 8.0, 11.1 volt/cm. at pH 7.1, 9.7 volt/cm. at pH 6.0, and 7.4 volt/cm. at pH 7.3*.



*, § See notes in Fig. 1.

Fig. 2. Electrophoretic patterns of MMb (five times crystallized) and MHb (once crystallized) of horse in phosphate buffers of $\Gamma/2$ 0.1 (unless otherwise noted).

See Fig. 1 for polarity, field strength, etc.

によつて像が不明瞭にならぬ限り泳動を継続させた。

色素蛋白溶液の濃度： 試料が褐色の物質であるため泳動像は暗くて見難いので低濃度の方が良いが，他方泳動中色素の拡散に伴つて像が不鮮明となるので低濃度にも限界がある。そこで経験から概ね1％内外の濃度を選んだ。尚濃度測定は cyanmet 形での spectrophotometry[2] によつた。

結　　果

メバチ Mb： まず結晶化1回のもの（C_1 と略記，以下これに準ずる）は pH 8.0 で泳動2時間迄は単一像を示したが，以後は先行する小波様の小成分群が出現した。後に恒温槽内の密度の不均一によつても同様の現象の現れることが判明し恐らくこの影響によるものと思はれるが実態は明かではない。以後の実験では恒温槽の水の密度の均一化に努めた。pH 7.1 では上昇，下降両脚共主峰とそれに先行する小成分（量は全体の 2〜3 ％）とが見られた。pH 0.6 では（電極は以上の pH の時とは逆に buffer 側が陰極）pH 8.0 7.1 の場合と異り主峰が小成分に先行している。尚 pH 6.0 での下降脚の主峰は丘陵形を示し、同様の現象はクジラ Mb[6] でも観察されているが理由は明かでない。

C_3 の泳動像は Fig. 1 に示した。pH 8.0 では上下両脚に於いて主峰と先行小成分とが見られ後者は全体の 2〜3 ％程度である。pH 7.1 では主峰の他，原位置付近に小成分が見られこれらは δ，ε 峰であると思はれる。pH 6.0 では C_1 の場合と略々同様であつた。又 pH 7.3 では両脚に於いて明かに2成分の存在が認められた。即ち主峰と之に先行する小成分とに分れ，後者は全体の数％を占めた。

メバチ Hb： （Fig. 1）pH 8.0, 7.1 何れの場合にも明かに二つの峰が見られた。併し pH 6.0 及び 7.3 では単一像を呈した。pH 7.3 でのこの事実は本 Hb の等電点（Fig. 3 参照）が pH 6 付近であること、上記の如く pH 7.1 で2成分を示すことから考えて奇異の感を受けるが，峰はやや左右不対称になつて来ておりより長く（6.5 時間以上）泳動を行えば2成分に分れたのではないかと思はれる。

馬 Mb (C_5)： （Fig. 2）pH 8.0, 7. 及び 7.3 の何れの場合も単一峰を示したが，pH 6.0 ではマグロ Mb の 場合と同様に主成分と後続小成分とが認められた。

馬 Hb (C_3)： （Fig. 2）pH 8.0 では上昇脚は 2，下降脚は3成分に分れ，pH 7.1 では両脚共1成分のみを示したが，下降脚の峰は分裂の徴候を示した。拡散著しいため泳動を打切つたので以後の経過は不明である。pH 6.0 では像が暗くて一部見えなかつたので正確なことは云い難いが，少く共上昇脚で2,下降脚で3成分が認められた。

尚メバチ，馬の両色素蛋白の上記 pH での電気泳動易動度を Table1 にまとめた。又これに若干の測定を補足して各色素蛋白の易動度と pH との関係を Fig. 3 に示した。

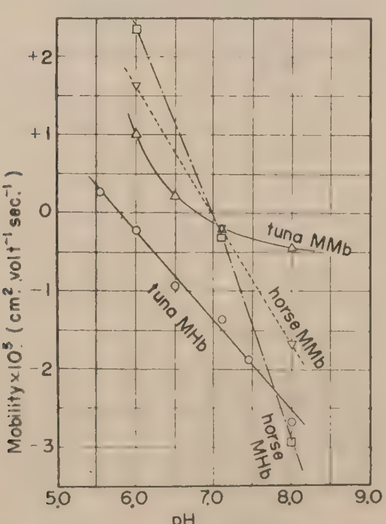


Fig. 3. Plot of mobility versus pH for MMb's and MHb's of tuna, *Parathunnus sibi*) and horse in phosphate buffers of Γ/2 0.1.

考　　察

（1） pH 7.1 でメバチ Mb (C_1) に見られた小成分はその易動度（-1.1×10^{-5} cm^2 volt^{-1}sec^{-1}）から推して混在 Hb らしくもあるが，他の pH ではこれに当る小成分は明かでなかつた。一方 C_3 は pH 7.1 では均一と思はれる像を示したがその他の pH では主峰と小成分とが認められた。この小成分の易動度は同じ pH でのメバチ Hb 各成分の易動度とは異つておりその混在によるものではない (Table 1)。メバチ Mb の等電点は Fig. 3 から明かなように pH 6.8 にある。即ち本 Mb は等電点付近の pH を除いてはもはや見かけ上の均一性を失い主成分の他之に先行又は後行する小成分が出現し而もこの小成分は結晶化を繰返しても除去しえない。馬 Mb についても pH 6.0 で類似の現象が観察された。この小成分は果して如

Table 1. Electrophoretic mobilities of MMb's and MHb's of tuna, *Parathunnus sibi*, and horse in phosphate buffers of $\Gamma/2$ 0.1 (unless otherwise noted). (Values in parentheses show mobilities of minor or minute components).

pH	Mobility x 10^5 (cm^2. $volt^{-1}$ $sec.^{-1}$)			
	Tuna		Horse	
	MMb	MHb	MMb	MHb
8.0	(−0.9) −0.5	−2.7 (−2.2)	−1.7	−2.9 (−2.7) (−2.5)
7.1	−0.2	−1.4 (−1.2)	−0.2	−0.3
6.0	+1.0 (+0.4)*	−0.2*	+1.6 (+0.8)*	+2.4 (+2.0) (+1.3)
7.3**	(−0.9) −0.3	−1.3	−0.5	−0.9

* Calculated from ascending patterns.
** Phosphate buffer of $\Gamma/2$ 0.15, containing 0.05 M NaCl.

何なる成分であろうか。クジラ Mb につき同様の現象を見た SCHMID[6] は本来一成分であるべきものが調製中又は貯蔵中一部変化して単一性を失つたか，或は元来等電点の非常に近い若干の成分が平衡を保つて存在するかのどちらかであろうと云つている。然し JOLLÈS[10] によると変性の疑いが強い。又本実験のメバチ Mb (C_3) につき pH 7.3 で見られた小成分は全体の数%を占め他の pH の場合より量的に少し多かつたが，この標品は調製後約2月を経たものであり貯蔵期間のより短い別の標品 (C_3) ではこの先行成分は殆ど認められなかつた。この事実は該成分が貯蔵中二次的に生じたものらしいことを示唆している。尚最近 HUYS[11] は著者らと略々同じ方法でマグロ Mb 結晶を調製し pH 7.3 (本実験で使用せものと組成，イオン強度同じ) で泳動を行い "事実上純粋" (pratiquement pur) であつたと報じているが詳細は不明に属する。

尚 pH 8.0, 7.1 でメバチ Hb は量的に大差のない2成分に分れたが (Fig. 1 参照)，正常な成体の Hb が単一でないとの事実は最近濾紙泳動，塩析其の他の手段によつて種々の哺乳動物につき見出されつつあり[12~15] 著者らもコイ，ブリ，鮭鱒類[16] 等の Hb でこの現象を観察している。故にメバチもその一例であるかも知れない。馬 Hb での結果も同様に解される (Fig. 2 参照)。

2. メバチ Mb の易動度は pH 8.0, 7.3, 7.1 何れでも同 Hb のそれの僅か数分の一に過ぎない。(Table 1 参照) 馬の場合は凡ての pH を通じて Mb は Hb の三分の二程度の易動度を示す。次に pH 7.3 でのメバチ，馬両者の Mb の易動度を比較すると前者は後者の約半分であり更にこれを buffer の組成，$\Gamma/2$，pH 等略々同様の条件下で行われた他の動物の Mb についての文献値と比べて見るとコイ (-2.5×10^{-5} cm^2 $volt^{-1}$ sec^{-1})[8] カメ (-1.27×10^{-5} cm^2 $volt^{-1}$ sec^{-1})[9] の場合よりも遙に小さい。又 pH 8.0 ではメバチ Mb の易動度は -0.5×10^{-5} cm^2 $volt^{-1}$ sec^{-1} であり馬 Mb の数分の一である。之を略々同じ条件下での牛 Mb (-1.4×10^{-5} cm^2 $volt^{-1}$ sec^{-1})[17] と比較しても亦遙かに小さい。何れにせよこのように易動度の小さい例は珍しい。尚前述の HUYS[11] のマグロ Mb の pH 7.3 での易動度は -0.3×10^{-5} cm^2 $volt^{-1}$ sec^{-1} で本報告の値とよく一致している。

3. メバチ Mb は本実験の $\Gamma/2$ 0.1 の phosphate buffer では pH 6.8 に等電点を有する (Fig. 3参照) 又馬の両色素蛋白の等電点は何れも pH 7弱にあり文献値[18,19] に略々一致している。一方メバチ Hb の等電点は遙かに低く，pH 5.8 にある。従来比較的低い等電点を有する魚類 Hb の例が若干報告されているが[20]，メバチもこの一例と解される。

要　　約

1. メバチ Mb の等電点は馬 Mb 乃至 Hb のそれに近く pH 6.8 にある。一方同 Hb の等電点は遙に低く pH 5.8 にある。

2. メバチ Mb は等電点付近の pH を除いては電気泳動的に均一でなく主峰の他に先行又は後続する小成分が見られた。この小成分は易動度から推して Hb ではなく，而も再結晶を繰返しても (2回) 除去で

きなかつた。一方同 Hb についても同様の現象が観察されたが，Mb の場合よりは2成分が量的に接近している。

3. メバチ Mb は測定した pH 範囲内では総じて小さい電気泳動易動度を有し，殊に等電点よりアルカリ側の pH で著しい。

終に臨み本研究実施に当り種々御助言を賜つた森高次郎教授並びに buffer の比伝導度測定其の他のため貴重な時間をさかれた東海水研松本重一郎氏に厚く御礼申上げる。尚本研究は一部文部省科学研究費補助金によつた。

文　　献

1) 松浦文雄，橋本周久 ： 本誌，**20**，946 (1955).
2) 松浦文雄，橋本周久 ： 本誌，**22**，408 (1956).
3) 松浦文雄，橋本周久 ： 昭和 30 年 10 月 28 日日本水産学会大会（長崎）講演.
4) Haurowitz, F. & Hardin, R.L. : "The Proteins". Academic Press, New York (1954), Vol. II, Part A, p. 324.
5) 松浦文雄，橋本周久 ： 未発表.
6) Schmid, K. : *Helv. Chim. Acta* **32**, 105 (1949).
7) 例えば Pauling, L. : *Sci.* **110**, 543 (1949).
8) Hamoir, G. : *Nature* **171**, 345 (1953).
9) Renard, S. : *Arch. internat. Physiol.* **61**, 466 (1953).
10) Jollès, P. & Repentigny, J. D. : *Biochim. et Biophys. Acta* **15**, 161 (1954).
11) Huys, J. V. : *Arch. internat. Physiol.* **62**, 296 (1954).
12) Cabannes, R. & Serain, C. : *Compt. rend. Soc. Biol.* **149**, 1193 (1955).
13) Roche, J., Derrien, Y., Reynaud, J., Laurent, G., & Roques, M. : *Bull. soc. chim. biol.* **36**, 51 (1954).
14) Haurowitz, F., Hardin, R. L., & Dicks, M. : *J. Phys. Chem.* **58**, 103 (1954).
15) Harris, H., & Warren, F. L. : *Biochem. J.* **60**, xxix (1955).
16) 松浦文雄，橋本周久 ： 昭和 32 年 4 月 3 日日本水産学会年会（東京）講演.
17) Lewis, U. J., & Schweigert, B. S. : *J. Biol. Chem.* **214**, 647 (1955).
18) Theorell, H. : *Biochem. Z.* **252**, 1 (1932).
19) Davis, B. D. & Cohn, E.J. : *J. Am. Chem. Soc.* **61**, 2092 (1939).
20) Prosser, C. L. *et al.* : "Comparative Animal Physiology," W. B. Saunders Company, Philadelphia (1950), p. 298.

ニジマス卵の発生中及び稚魚の成育中に於ける蛋白質のアミノ酸組成の変化について

荻野珍吉・須山三千三
(東京水産大学)

Variations in Amino Acid Composition of Protein During the Devélopment of Egg and the Growth of Young Fish of Rainbow Trout, *Salmo irideus*

Chinkichi OGINO and Michizo SUYAMA

Developing trout eggs and growing young fishes at various stages have been analyzed in respect of amino acid composition of their total proteins (Table 1). The results obtained are as follows :

1) Regarding the amino acid composition of unfertilized egg protein, there is little difference between the rainbow trout and the brook trout.

2) The development of rainbow trout egg shows little change in the amino acid composition of the total protein.

3) In the period from hatching out of the egg to the first feeding of the fry, body protein undergoes some variation in amino acid composition, among which decrease of alanine and increase of glycine are most remarkable.

4) The amino acid composition of body-protein of fingerlings, however, does not exhibit any appreciable variation during their growth, except as to glycine content.

5) On the basis of the amino acid composition of body protein found for growing fingerling, a brief discussion has been made regarding the most suitable amino acid composition of the diet-protein for fingerling of rainbow trout.

魚卵の発生中に於ける卵成分の変化及び稚魚が摂餌を開始してから起る体成分の変化を明かにする事は水産増殖の立場より特に養魚餌料の調製に際して知つてをかねばならぬ基礎的事項の一つと考えられる。

著者等は魚卵の発生中の生化学的変化の一端を明かにし，且つ養鱒餌料に適した餌料蛋白質のアミノ酸組成を決定する目的を以て，発生中のニジマス卵の蛋白質及び摂餌開始後の稚魚の体蛋白質のアミノ酸組成の変化について行つた研究結果及び比較のため行つたカワマス未受精卵蛋白質の分析結果を報告する。尚卵の発生中に於ける一般組成の変化に関しては別に報告する予定である。

実　　験

試料： 発生の各段階の卵及び稚魚は東京水産大学大泉実習場，長野県水産指導所及び群馬県箱島養鱒場より入手した。試料はアルコールに浸漬して実験室に運び，乳鉢にて磨細し，99 %アルコールにて数回煮沸し，可溶性物質を除き，更らにエーテルにて脱脂，乾燥後粉末とした。

アミノ酸の定量法： 試料に 300 倍容の 6 N-塩酸を加え，20 時間煮沸加水分解して後アミノ酸の分析を行つた。定量法は arginine は坂口反応による比色法[1]，histidine は PAULI 法[1]，proline は ninhydrin を用いる比色法[1] により測定し，其他のアミノ酸はペーパークロマトグラフィーによる方法[2] で測定した。尚 tryptophan は別にアルカリ加水分解液（5 N-NaOH にて 100°C で 16 時間加水分解）を用い，*p*-dimethylaminobenzaldehyde を使用する比色法[1] によつて定量した。ペーパークロマトグラフィーによるアミノ酸定量の精度は，アミノ酸の種類で異なるが，純アミノ酸混合溶液を用いた場合の回収率は 95〜103 %の範囲

1957 年 6 月 12 日 受理

であつた。

結果及び考察

卵及び稚魚の蛋白質のアミノ酸組成の分析結果は Table 1 に示す如くである。発生中の変化を追究するには，同一群の卵より得た試料を用いて測定するのが妥当であると考えられるが，予備実験に於て，異なつた養鱒場より得たニジマス未受精卵蛋白質のアミノ酸組成には全く差異が認められなかつたから，同一種類の魚であれば，蛋白質のアミノ酸組成の変化を追究するにはその様な考慮をはらう必要は無いと考えられる。従つて Table 1 の分析値は，同一群の卵より得た試料のものではないが，発生中の変化を示しているものと考える事が出来る。Table 1 に示す様に，未受精卵蛋白質のアミノ酸組成は，ニジマスとカワマスの間でははとんど差異は認められない。又発生中のニジマス卵蛋白質のアミノ酸組成は孵化に至る迄，アミノ酸の種類によつてはわずかの変化が認められるものもあるが，大きな変化は認められない。然るに孵化後から稚魚が摂餌を開始する迄の期間に，体蛋白質のアミノ酸組成に変化が起る事が認められる。即ち孵化直後のものと摂餌開始後3日目（孵化後約 30 日経過）の試料について比較すると， phenylalanine，tyrosine，tryptophan，cystine，arginine，histidine，lysine，aspartic acid 及び glutamic acid 含量にはほとんど変化が無いが，alanine，valine，leucine，isoleucine，proline，serine，threonine 及び methionine の含有量は減少を示し，glycine のみは増加している。之等の内最も変化が著しいのは，alanine の減少と glycine の増加である。alanine は孵化後減少し其後ほとんど変化しないが，glycine は稚魚の成育にともなつて次第に増加する。methionine は摂餌開始時には減少しているが其後次第に増加し，glutamic acid はわずかずつではあるが次第に増加する。今回の分析に於ては amide 及び humin 態窒素の定量は行なはなかつたが，窒素の回収率を見ると，卵の場合は稍々アミノ酸含量が高く出ている様な傾向が見られる。又加水分解時に生成した humin 質の量は卵の場合は極めて少量であつたが，稚魚の場合は卵の場合よりも多量の humin 質の形成が認められた。従つて加水分解時に於けるアミノ酸の分解量は，稚魚の場合は卵の場合より多いと考え

Table 1. Amino acid composition of total protein of trout egg and fingerling (values given as % of protein, calculated to 16.0 % N)

	Brook trout	Rainbow trout						
Details of sample	unfertilized egg	unfertilized egg	eyed egg	sac fry, just after hatching	fingerling, after 3 days feeding ; 2.5 cm in body length	fingerling ; 4.2 cm in body length	fingerling; 5.4 cm in body length	average amino acid composition of fingerling
Name of hatchery	OIZUMI	OIZUMI	AKASHINA	AKASHINA	AKASHINA	HAKOSHIMA	HAKOSHIMA	
Glycine	3.0	3.2	3.0	3.0	5.6	5.9	7.7	6.4
Alanine	8.8	9.5	10.1	10.1	6.1	6.0	6.9	6.3
Valine	7.6	7.9	7.7	7.8	5.4	5.0	5.4	5.2
Leucine	10.3	10.5	10.1	10.4	7.8	7.6	7.1	7.5
Isoleucine	5.7	6.0	5.8	6.1	4.8	4.6	4.6	4.7
Proline	6.9	6.7	7.0	6.6	5.8	5.8	5.7	5.8
Phenylalanine	6.0	6.1	5.5	5.8	5.5	4.7	5.4	5.2
Tyrosine	4.2	4.4	4.2	4.1	4.1	3.8	3.9	3.9
Tryptophan	0.96	0.92	0.88	0.82	0.95	0.87	0.82	0.9
Serine	5.6	6.0	5.5	5.7	4.3	4.2	4.2	4.2
Threonine	5.8	6.0	5.3	5.4	4.4	4.3	4.3	4.3
Cystine	2.5	2.4	2.7	2.8	2.1	2.0	1.8	2.0
Methionine	3.2	3.4	2.8	3.1	2.4	2.6	3.6	2.9
Arginine	8.0	8.4	7.8	7.9	8.2	7.9	7.7	7.9
Histidine	2.9	3.2	3.1	3.2	2.8	2.6	2.4	2.6
Lysine	9.8	9.0	10.7	10.0	9.6	9.9	9.7	9.7
Aspartic acid	10.1	10.2	9.2	9.7	8.9	10.4	9.5	9.6
Glutamic acid	12.4	12.2	12.9	13.1	13.8	13.9	14.4	14.0
Total	113.7	116.0	114.2	115.6	102.4	102.0	105.1	
Nitrogen recovered (%)	99.3	101.1	100.3	101.0	91.6	91.0	93.4	

られ，摂餌後減少したアミノ酸の総てが実際に生体中に於て起つた変化を其儘示していないものもある事が考えられるが，alanine の減少と glycine の増加は明な事実と考えられる。PHILLIPS 等[3]はブラウンマスの卵に於て孵化時に蛋白質が減少する事を報告しているが，alanine の減少も恐らく蛋白質の減少と何か関係があるものと考えられる。又 glycine の増加は結締組織の形成と関係があるものと考えられる。此の様にニジマス卵の発生中蛋白質のアミノ酸組成にはほとんど変化がなく，卵の孵化後稚魚が摂餌を初める迄に体蛋白質のアミノ酸組成が一部変化を示し，glycine の様に稚魚の生育とともに含量が変化するアミノ酸もあるが,稚魚体蛋白質の大部分のアミノ酸含量には，此の実験の範囲内では，生育中大きな変化は認められない。即ち稚魚の生育にともない代謝される蛋白質のアミノ酸組成と体蛋白質のアミノ酸組成との間の差異は少ないと考えられる。以上の事実より，魚の必須アミノ酸に関しては不明であるが，Table 1 に示した稚魚体蛋白質の平均アミノ酸組成は，ニジマス稚魚の成育に適した飼料蛋白質のアミノ酸組成に近いものと一応考え得るのではないであろうか。

要　　約

発生中のニジマス卵及び稚魚の蛋白質及びカワマス未受精卵蛋白質のアミノ酸組成を分析し次の結果を得た。

1. カワマス及びニジマス未受精卵蛋白質のアミノ酸組成にはほとんど差異が認められない。

2. 卵の発生中蛋白質のアミノ酸組成には大きな変化は認められない。

3. 卵の孵化後稚魚が摂餌を初める迄に体蛋白質のアミノ酸組成が変化する。変化の最も著しいのは alanine の減少と glycine の増加である。

4. 稚魚の成育にともない体蛋白質のアミノ酸組成は，glycine が増加する事を除くと，他のアミノ酸含量には大きな変化は認められない。

5. 稚魚体蛋白質の平均アミノ酸組成は，ニジマス稚魚の成育に適した飼料蛋白質のアミノ酸組成を示しているものと考えられる。

終りに臨み試料の入手に便宜を与へられた東京水産大学稲葉伝三郎教授，野村稔氏，大泉実習場植松善次郎氏，長野県水産指導所谷崎正生所長及び群馬県箱島養鱒場の国峯一声，高橋猛両氏に深謝の意を表する。又研究費の一部は文部省科学研究費によつたものであり記して感謝の意を表明する。

文　　献

1) 水島三一郎，赤堀四郎 : 蛋白質化学，I 巻，共立出版，東京（1954），pp. 233--271.

2) OGINO, C. : *J. Tokyo Univ. Fish.*, **43**, 7 (1957).

3) PHILLIPS, A. M. Jr., BROCKWAY, D. R. and BALZER, G. C. Jr. : *Prog. Fish-Cult.*, **18**, 104 (1956).

浅草海苔の風味に就て—III. 浅草海苔の遊離アミノ酸の含量

土屋靖彦・佐々木　劭
（東北大学農学部水産利用学教室）

Studies on the Savour of Marine Algae—III. Contents of Free Amino Acids in the Laver, *Porphyra tenera*.

Yasuhiko TSUCHIYA and Takashi SASAKI

In the previous paper, we have reported that the amounts of glycine and alanine in the laver, *Porphyra tenera*, vary with the season and attain to the maxima in January.

In the present work, the authors have determined the quantities of various free amino acids in the laver by using the method of microbiological assay. As shown in Table 1, glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, phenylalanine, serine, threonine, arginine, lysine, aspartic acid and glutamic acid were determined but tyrosine, tryptophan, methionine and histidine were not recognized. It is noticed that there are large amounts of some sweet or flavorous amino acids such as alanine, glutamic acid, aspartic acid, glycine, threonine, proline and phenylalanine in the laver.

It was also found that the contents of glycine, alanine and glutamic acid in the laver reared at Matsushima Bay increased from autumn to winter and reached to the maxima at the last decade of December or beginning of January and thereafter decreased until March as shown in Table 2 and Fig. 1.

緒　　言

著者の一人土屋は，第2報[1]に於いて浅草海苔の alanine 及び glycine 含量の季節的変化を調べ，更にこれらアミノ酸が環境によつて影響される事を報告したが，浅草海苔の旨味アミノ酸と考えられるものに，既に第1報[2]に記載したように，以上2アミノ酸の他に glutamic acid を始め，なおいくつかのアミノ酸が考えられ，改めて bioassay により海苔の各種遊離アミノ酸を定量して見た。その結果 glutamic acid，aspartic acid，proline，serine，threonine，valine の如き旨味アミノ酸及び leucine 他数種のアミノ酸を定量する事が出来た。又前回行つた alanine 及び glycine 含量の他に更に glutamic acid を加えて再び季節的消長を調べたので，それらの結果をも併せて茲に報告する。

尚，本研究を行うに当つて，bioassay の菌株 *Lactobacillus arabinosus* 17-5，*Lactobacillus fermenti* 36，*Streptococcus faecalis* R，*Leuconostoc mesenteroides* P-60 及び *Leuconostoc citrovorum* 8081 を快く恵与された東京大学森高次郎教授に厚く御礼申し上げる。

実　験　方　法

i）試料；各種アミノ酸を定量する試料は，1956年1月下旬宮城県気仙沼湾で採取された市販品を用いた。一方 glycine，alanine 及び glutamic acid の季節的消長を見た試料は，1955年9月福島県松川浦で種付し，10月下旬松島湾に建込みしたものを用いた。

ii）遊離アミノ酸定量方法；乾燥試料 2g に 150cc の蒸溜水を加え，還流冷却器を取り付け，沸騰水浴上で3時間浸出した後，浸出液を減圧濃縮し，アルコール及びクロロホルムと処理して，蛋白を含む夾雑物を除き，200cc に定容して低温に貯え，適宜適当濃度に稀釈して bioassay により各アミノ酸を定量する。

1957年6月14日受理

尚 glycine, alanine 及び glutamic acid の季節的消長を見る為には, glycine は B. ALEXANDER *et al.* の方法[3] により, 又 alanine はニンヒドリン酸化法[4], glutamic acid は WAELSCH の吸着酸化法[5] に従つて夫々定量した。

実験結果及び考察

COULSON[6] 及び荻野[7] は定性的に海苔の遊離アミノ酸として aspartic acid, glutamic acid, serine, glycine, threonine, alanine, tyrosine, proline, tryptophan, arginine, leucine, isoleucine, valine, cystine, histidine 及び lysine を検出したが, 高木[8] は aspartic acid, threonine, serine, proline, asparagine, glutamic acid, glycine, alanine, tryptophan, arginine 及び citrulline を検出し且つ定量した。即ち高木は COULSON 及び荻野らの見出した tyrosine, leucine, isoleucine, valine, cystine, histidine 及び lysine を見出さない代りに, citrulline 及び asparagine の存在を見ている。一方吾々が今回行つた結果は Table 1 (cystine の定量は省略した) に要約される様に 13 種類のアミノ酸を見出したが, これは COULSON 及び荻野が検出したアミノ酸の殆んどすべてを定量したことになる。但し tyrosine, tryptophan 及び histidine を定量する事は出来なかつた。吾々の bioassay は, 試料 1 cc 中に各アミノ酸が 15 γ 以下の存在で定量可能であるから, 上記 3 アミノ酸は恐らく存在するとしても微量と思われる。なお吾々は従来浅草海苔から見出されなかつた phenylalanine (15 mg%) の存在を今回確認した。

次に吾々の定量したアミノ酸含量を, 高木の**それ**と比較して見ると (Table 1 に高木の結果を引用した), glycine, alanine, serine, arginine は高木の**測定**値より稍々多く, glutamic acid, threonine 及び proline は稍々少ない。しかし乍らそれらは季節的にか環境差などによつて種々影響を受け易いことを考えると, その差がそれ程著しいとは云えないが, aspartic acid 及び tryptophan については, 上記環境差や季節的変化だけでは説明のつき難い大差が見られる。特に tryptophan は吾々が全然検出定量しないに拘らず, 高木は可成り多量を見出している点, 甚だ奇異で, 今後特に検討しなければならない所である。

次に glycine, alanine 及び glutamic acid の季節的消長は Table 2 及び Fig. 1 に纒められる。即ち glycine, alanine 及び glutamic acid は, 浅草海苔の呈味アミノ酸の主体であるが, いずれも 12 月下旬乃至 1 月初旬に最大値を示す。これは第 2 報に於いて既に glycine 及び alanine に就いては東京港羽田産, 三河湾旭産, 宮城県万石浦産の浅草海苔に夫々見られた所であるが, 今回更に glutamic acid も同時期に最大に達することが明らかとなつた訳である。恐らく遊離アミノ酸の生理的意義と関連のある事と考えられ, 海苔の代謝が最も旺盛な時期に最大値が見られると想像される。尚, 海苔の育成中に時々ひびを移動して環境を変じて行く養殖法 (移動養殖) と, 一旦ひび建をした後はその位置を変じない法 (通常養殖) を比較して見ると, Fig. 1 に見られる様にアミノ酸はいずれも後者の方が早く減少し始めているが, これは, 春先きの環境変化を固定養殖の方が早や目に受け易いことに因るものと考える。

Table 1. The contents of free amino acids in *Porphyra tenera*

Amino acid	mg. %	mg. % (Takagi)	Amino acid	mg. %	mg. % (Takagi)
glycine	125	89.1	threonine	78	154.7
alanine	1092	942.1	methionine	0	
valine	21		arginine	90	56.5
leucine	20		histidine	0	
isoleucine	14		lysine	24	
proline	62	111.8	aspartic acid	230	817.2
phenylalanine	15		glutamic acid	640	768.2
tyrosine	0		asparagine	—	214.4
tryptophan	0	132.5	citrulline	—	240.9
serine	53	40.4			

Table 2. Seasonal variation of glycine, alanine and glutamic acid in the laver.

Date of sampling		Laver reared by transplanting method			Laver reared by ordinary method		
		glycine mg. %	alanine mg. %	glutamic mg. %	glycine mg. %	alanine mg. %	glutamic mg. %
Nov.	27	18	484	125	13	352	113
Dec.	11	41	642	180	53	273	113
	18	96	906	220	98	616	165
	28	94	921	264	94	918	264
Jan.	8	167	1372	355	50	796	160
	15	54	1265	392	59	665	151
	23	44	1054	411	59	208	102
	29	31	836	494	94	107	142
Feb.	5	46	574	284	72	127	123
	12	53	639	390	66	198	167
	19	63	177	203	58	68	128
Mar.	4	38	803	263	70	107	125
	21	45	411	351	84	118	100

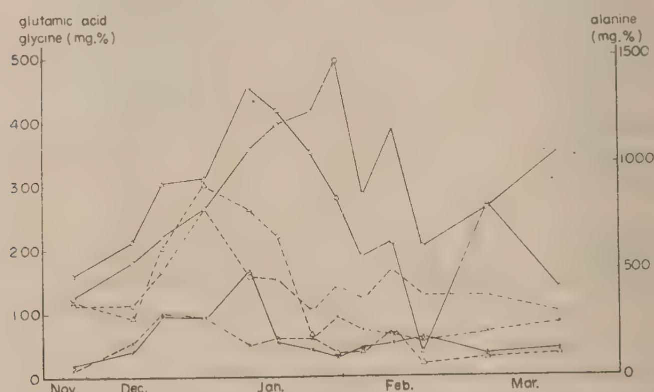


Fig. 1. Seasonal variation of glycine, alanine and glutamic acid
—— Laver reared by transplanting method.
······ Laver reared by ordinary method.
× glycine, △ alanine, ○ glutamic acid.

要 約

1) 浅草海苔の遊離アミノ酸として，13 種即ち glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, phenylalanine, serine, threonine, arginine, lysine, aspartic acid 及び glutamic acid が定量され，特に alanine, glutamic acid, aspartic acid 及び glycine は，それぞれ 1092 mg%，640 mg%，230mg% 及び 125 mg% の多量が認められた。

2) tyrosine, tryptophan, methionine 及び histidine は認められなかつた。

3) 従来検出されなかつた phenylalanine が 15 mg% 新たに定量された。

4) glycine, alanine 及び glutamic acid 含量の季節的消長を，松島港の浅草海苔に就いて調べた結果，いずれも 12 月下旬乃至 1 月初旬に最大になる事が見られた。

文　　献

1) 土屋，鈴木： 本誌 **20**, 1092 (1955).
2) 土屋，鈴木，野村： 日水会東北支部会報 **3**, 14 (1952).
3) Alexander, B., Landwehr, G. and Seligman, A. M. : *J. Biol. Chem.*, **160**, 51 (1945).
4) Virtanen, A. I., Laine, T. and Toivonen T. : *Ztschr. f. Physiol. Chem.*, (B) 266, 193 (1940).
5) Waelsch, H. and Prescott, B. A. : *Federation Prc.*, **4**, 108 (1945).
6) Coulson C. B. : *Chem. and Ind.*, 971 (1953).
7) 荻野： *J. Tokyo Univ. Fish.*, **41**, 108 (1955).
8) 高木： *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **7**, 130 (1956).

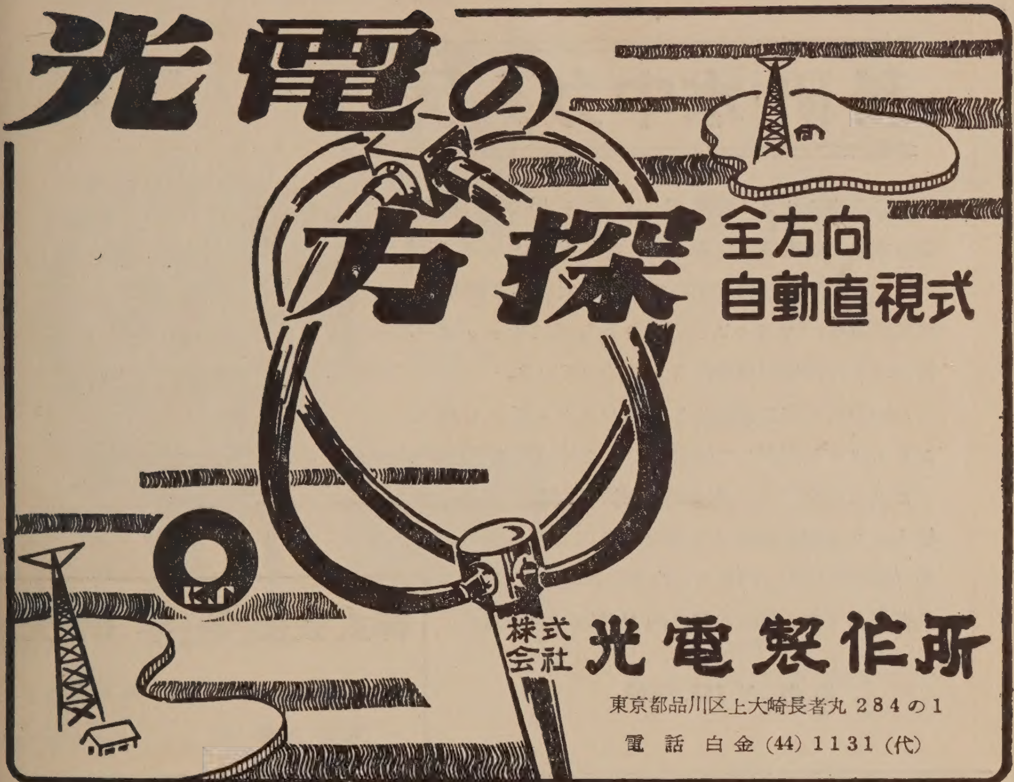
昭和三十二年八月二十日　印　刷
昭和三十二年八月二十五日　発　行

第二十三巻　第四号

本号定価 110円 (送料別)

編集兼発行者　松　江　吉　行
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内
発　行　所　日　本　水　産　学　会
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内
振　替　口　座　東　京　59529番

印　刷　者　篠　原　収　二
印　刷　所　東海出版印刷株式会社
発　売　所　東海出版印刷株式会社
東京都中野区江古田3の1223
電話中野 (38) 4101・9108



光電の方探
全方向
自動直視式
株式会社 光電製作所
東京都品川区上大崎長者丸 284の1
電話 白金 (44) 1131 (代)



NOHMI
炭酸瓦斯消火装置
空気式自動報知装置
設計・製作・工事・保守
NOHMI SMOKE DETECTER
能美防災工業株式会社
営業所 東京都千代田区九段4の13 電話九段(33)代表5181・8307
大阪市福島区堂島大橋北詰 莫大小会館 電話福島(45)直通2784